

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ



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

Ekim 2021

Cilt: 47

Sayı : 2



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ

SELÇUK UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE FACULTY

Dergi Sahibi: **Prof.Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI**

Baş Editör: **Prof.Dr. Evren YILDIZTUGAY**

İletişim/Correspondence

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanlığı
Alaeddin Keykubat Kampusu, Selçuklu, 42130, Konya
Tel: +90 332 223 8853 Fax: +90 332 2412499

Web: <http://dergipark.gov.tr/sufefd>

E-posta: selcukfendergi@gmail.com

Yayın Tarihi / Publication Date

30.10.2021

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ SELCUK UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE FACULTY

Baş Editör (Editor in chief)

Prof.Dr. Evren YILDIZTUGAY
(S.Ü. Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü)

Yayın Kurulu (Editorial Board)

Prof.Dr. Haluk ÖZPARLAK, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Mustafa ÖZMEN, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Rawil F. FAKHRULLIN, Kazan Federal Üniversitesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Kazan, Tataristan
Prof.Dr. Adriano MOLLICA, Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara, İtalya
Prof.Dr. Mohamad Fawzi MAHOMOODALLY, Mauritius Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Bölümü, Moka, Mauritius
Prof.Dr. Marcello LOCATELLI, Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara, İtalya
Doç.Dr. Gökhan ZENGİN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Salih Zeki BAŞ, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Serdar KARAKURT, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Raşit AYDIN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Halit ÇAVUŞOĞLU, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Türkiye
Assist.Prof.Dr. Amro K.F. DYAB, Minia Üniversitesi, Kimya Bölümü, Mısır
Assist.Prof.Dr. Simone CARRADORI, Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara, İtalya
Dr.Öğr.Ü. Sinan ALKAN, Selçuk Üniversitesi, Çumra Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Organik Tarım İşletmeciliği, Türkiye

Danışma Kurulu (Advisory Board)

Prof.Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye
Prof. Dr. Yavuz BAĞCI, Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, Türkiye
Prof. Dr. Rıza OĞUL, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Kemal AYDIN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Coşkun KUŞ, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Buğra SARAÇOĞLU, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Gülşin ARSLAN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Türkiye
Prof. Dr. İmren HATAY PATIR, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü, Türkiye

47(2)
2021

Yazışma Adresi

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanlığı
Alaeddin Keykubat Kampusu, Selçuklu, 42130, Konya
✉: selcukfendergi@gmail.com
Tel : 0 332 223 88 53 • Faks : 0 332 241 24 99

..... Yılda İki Kez Yayınlanır



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ

SELÇUK UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE FACULTY

e-ISSN: 2458-9411

CİLT:47, SAYI:2, EKİM 2021

VOLUME:47, ISSUE 2, OCTOBER 2021

İÇİNDEKİLER

Contents

- Bazı Lacertidlerde (*Lacerta trilineata* s.l., *Parvilacerta parva*, *Ophisops elegans*) Karşılaştırmalı Yaş Tayini**125–135
*Comparative Age Determination in Some Lacertids (*Lacerta trilineata* s.l., *Ophisops elegans*, *Parvilacerta parva*)*
Çiğdem KAPLAN, Cemal Varol TOK
- Hücre Kültürlerine Genel Bakış**.....136–149
Overview of Cell Cultures
Harika Eylül ESMER DURUEL, Nazlı Sevim ÇAĞAN, Serra IŞIK, Figen Esin KAYHAN
- Ga katkıli Li_2MnO_3 Katot Malzemesinin İyonik İletkenlik Ölçümleri**150–157
Ionic Conductivity Measurements of Ga-doped Li_2MnO_3 Cathode Material
Hadi Baveghar, Gültekin ÇELİK, Serdar DALKILIÇ
- Adını Spil Dağı'ndan Alan Lamiaceae Taksonlarının Anatomik Özelliklerinin Sayısal Olarak Karşılaştırılması**.....158–167
Numerical Comparison of Anatomical Features of Lamiaceae Taxa Named After Spil Mountain
Peri Ilgar kızı MEMMEDOVA, Canan ÖZDEMİR
- Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Meyve Sineği Modelinde Besin Olarak Kabak Çekirdeği Zarının Değerlendirilmesi**.....168–180
Evaluation of the Pumpkin Seed Membrane as a Nutrient in the Fruit Fly Model, Fed With High Fat Diet
Eda GÜNEŞ, Şerife BİÇER BAYRAM
- Endemik *Cousinia aucheri* DC. (İnce Kızan) Üzerine Anatomik, Palinolojik ve Mikromorfolojik Araştırmalar**.....181–191
*Anatomical, Palynological and Micromorphological Studies on *Cousinia aucheri*, an Endemic Species*
Bayram ATASAGUN, Deniz ULUKUŞ, Osman TUGAY
- Endemik *Cousinia decolorans* Freyn & Sint. (Asteraceae) Türünün Anatomik, Palinolojik ve Mikromorfolojik Özellikleri**.....192–202
*Anatomical, Palynological and Micromorphological Characteristics of Endemic *Cousinia decolorans* Freyn & Sint. (Asteraceae)*
Deniz ULUKUŞ, Bayram ATASAGUN, Osman TUGAY
- Organik Yariiletken Tetrasiyaoquinodimetan Tabanlı Heteroyapıların Optoelektronik Özelliklerinin Araştırılması**203–213
Investigation of Optoelectronic Properties of Organic Semiconductor Tetracyaoquinodimethane Based Heterostructures
Burcu AVCI, Ali Akbar HUSSAINI, Mehmet Okan ERDAL, Murat YILDIRIM
- Pd_2CrPb Heusler Bileşiğinin Yapısal ve Elastik Özellikleri**214–220
Structural and Elastic Properties of Pd_2CrPb Heusler Compound
Ziya MERDAN, F. Irmak BALMUMCU

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi

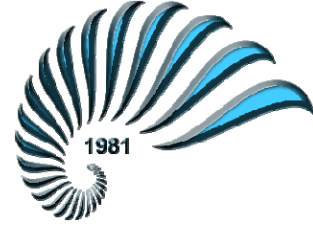
ISSN 2458-9411 (e-dergi) Dergi web sayfası <http://dergipark.gov.tr/sufefd>

Prof.Dr. Evren YILDIZTUGAY, Editör,

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi,

Biyoteknoloji Bölümü, 42130 Konya, TÜRKİYE

e-mail: selcukfendergi@gmail.com



Makale Gönderme ve Telif Hakkı Devir Sözleşmesi

Makale Başlığı	
Yazar(lar)	

Makaleden sorumlu yazarın bilgileri:

Adı ve Soyadı

Adresi

E-posta

Telefon

Faks

Sunmuş olduğumuz makalenin yazar(lar)ı olarak ben/bizler aşağıdaki konuları taahhüt ederiz:

- Bu makale tarafımı/tarafımızdan yapılmış özgün bir çalışmadır.
- Yazar/Yazarlar olarak makalenin sorumluluğunu üstlenirim/üstleniriz.
- Bu makale başka bir yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere herhangi bir yere yollanmamıştır.
- Yazar/Yazarlar gönderilen makaleyi görmüş ve sonuçlarını onaylamıştır.

Yukarıdaki konular dışında yazar(lar)ın aşağıdaki hakları ayrıca saklıdır:

- Telif hakkı dışındaki patent hakları yazar/yazarlara aittir.
- Yazar/Yazarlar makalenin tümünü kitaplarında ve derslerinde, sözlü sunumlarında ve konferanslarında kullanabilir.
- Satış amaçlı olmayan kendi faaliyetleri için çoğaltma hakları vardır.

Bunun dışında, makalenin çoğaltılması, postalanması ve diğer yollardan dağıtılması, ancak bilim ve yayın kurulunun izni ile yapılabilir. Makalenin tümü veya bir kısmından atıf yapılarak yararlanılabilir.

Ben/Biz bu makalenin, etik kurallara uygun olduğunu ve belirtilen materyal ve yöntemler kullanıldığında herhangi bir zarara ve yaralanmaya neden olmayacağını bildiririz.

Makaleye ait tüm materyaller (kabul edilen veya reddedilen fotoğraflar, orijinal şekiller ve diğerleri), bilim ve yayın kurulunca bir yıl süreyle saklanacak ve daha sonra imha edilecektir.

Bu belge, tüm yazar/yazarlar tarafından imzalanmalıdır. Bütün imzalar, ıslak imza olmalıdır.

*Yazar(lar) Adı ve Soyadı	Adresi	Tarih	İmza

*Satır sayısı, yazar sayısı kadardır. Yetersizse artırılabilir.

Makalenin Editörler Kurulunca yayına kabul edilmemesi durumunda bu belge geçersizdir.



Makaleler, A4 (210 mmx297 mm) boyutunda 12 punto Times New Roman yazı tipinde ve çift satır aralıklı yazılmalıdır. Sayfanın sağında, solunda, altında ve üstünde 2.5'er cm boşluk bırakılmalı ve yazılar sağa-sola dayalı olmalıdır. Makalenin her sayfası ve satırları numaralandırılmalıdır. Yazar ad(lar)ı açık olarak yazılmalı ve akademik unvan belirtilmemelidir. Türkçe hazırlanan makaleler Türk Dil Kurumu'nun son yazım kılavuzu dikkate alınarak yazılmalıdır.

Makale: Türkçe Başlık, Türkçe Öz, Anahtar Kelimeler, İngilizce Başlık, Abstract, Keywords, Giriş, Materyal ve Metot, Araştırma Sonuçları, Tartışma, Teşekkür (varsa), **Kaynaklar** bölümlerinden oluşmalıdır. Bölüm adları koyu yazılmalıdır. Varsa her bir şekil ve tablolar makale içerisinde bahsedildikleri yerden sonra sırayla yerleştirilmelidir.

Başlık: Kısa ve açıklayıcı olmalı, 14 punto ve koyu, kelimelerin ilk harfi büyük olmalı, ortalanarak yazılmalı ve 15 kelimeyi geçmemelidir. İngilizce başlık Türkçe başlığı tam olarak karşılmalı, 14 punto ve koyu yazılmalıdır.

Öz: Türkçe ve İngilizce özlerin her biri 300 kelimeyi geçmemelidir. Türkçe ve İngilizce özlere sırasıyla "Öz" ve "Abstract" kelimeleri kullanılmalıdır. Öz, çalışmanın amacını, nasıl yapıldığını, sonuçları ve sonuçlar üzerine yazar(lar)ın yaptığı değerlendirmeleri içermelidir. **Öz ve Abstract kısımlarında kesinlikle referans kullanılmamalıdır.**

Anahtar Kelimeler: Özlerin 1 satır altına, her anahtar kelimenin ilk harfi büyük diğerleri küçük harflerle, mümkünse başlıkta kullanılmayan, çalışmayı en iyi biçimde tanımlayacak en fazla 6 anahtar kelime yazılmalıdır.

Giriş: Bu bölümde; çalışma konusu, gerekçesi, konu ile doğrudan ilgili önceki çalışmalar ve çalışmanın amacı verilmelidir.

Materyal ve Metot: Bu bölümde makalede kullanılan materyal ve metot açıkça belirtilmelidir.

Araştırma Sonuçları: Elde edilen sonuçlar verilmeli, gerekirse çizelge, şekil ve grafiklerle desteklenerek bulgular açıklanmalıdır. Elde edilen bulgular tekrardan kaçınılması amacıyla ya çizelge ya da grafik olarak verilmelidir. İstatistik olarak önemli bulunan faktörler, uygulanan istatistik analiz tekniğine uygun karşılaştırma yöntemi ile yorumlanarak ilgili istatistikler üzerinde harflendirme yapılmalıdır. İstatistik analiz yönteminin doğru seçilmediği ve/ya analiz gereği gibi yapılmadığı durumlarda editörler kurulu makaleyi değerlendirme dışında tutabilir.

Tartışma: Bulgular çalışma ile ilgili güncel makalelerle tartışılmalı, ancak gereksiz tekrarlardan kaçınılmalıdır. Bulguların başka araştırmalarla benzerlik ve farklılıkları verilmeli, nedenleri açıklanmalıdır.

Teşekkür: Mümkün olduğunca kısa olmalı ve yapılan katkı ifade edilerek verilmelidir.

Kaynaklar: Eserde yararlanılan kaynaklara ilişkin atıf metin içinde "(Yazarın soyadı, yıl)" yöntemine göre yapılmalıdır. Örnek: (Yıldızıtugay, 2006), (Yıldızıtugay ve Küçüköğdük, 2012). Yazara atıf yapılırsa sadece yayının yılı parantez içine alınmalıdır. Örnek: Yıldızıtugay (2006)'a göre ya da Bağıcı ve Küçüköğdük (2000). Üç ya da daha fazla yazar için makale içindeki atıfta Türkçe makalelerde "ve ark." ; İngilizce makalelerde "et al." kullanılmalıdır. Örnek: (Yıldızıtugay ve ark., 2014), (Yıldızıtugay et al., 2014) veya Özfidan-Konakcı ve ark. (2015)'e göre. Aynı yazarın aynı yıl içinde 1'den fazla yayını varsa, yıldan sonra küçük harfler verilmelidir. Örnek: (Yıldızıtugay ve ark., 2014a). Aynı yazarın birden fazla yayınına atıf yapılacaksa yıldan sonra noktalı virgül (;) işareti ile ayırt edilmelidir. Örnek: (Yıldızıtugay, 2012; 2013; 2014). Birden fazla atıf yapılırsa atıflar arasında noktalı virgül (;) kullanılmalıdır. Örnek: (Yıldızıtugay ve Küçüköğdük, 2012; Yıldızıtugay ve ark., 2014; Yıldızıtugay, 2006).

Kaynaklar bölümünde metin içinde atıf yapılan tüm kaynaklar alfabetik olarak (yazarların soyadlarına göre) ve orijinal dilinde verilir. Dergi isimleri italik yazılmalıdır. **Kongre kitaplarında Türkçe ya da yabancı dilde özeti yayınlanmış çalışmalara atıf yapılamaz.** Makaledeki yanlış atıf ve kaynak gösterimlerine ait sorumluluk yazar(lar)a aittir.

Dergi:

Asada K (2006). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 601-639.

Madhava Rao KV and Sresty TV (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci* 157: 113-128.

Liu ZJ, Guo YK, Bai JG (2010a). Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress. *J Plant Growth Regul* 29: 171-183.

Kitap:

Kılınc M, Kutbay HG (2008). Bitki Ekolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara.

Odum EP (1971). Fundamentals of Ecology, Third Edition, W.B. Saunders Company, London.

Kitabın Bir Bölümü:

Babaoğlu M, Yorgancılar M, Akbudak MA (2001). Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri. (Editörler M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan), *Bitki Biyoteknolojisi Cilt I Doku Kültürü ve Uygulamaları*, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, s. 1-35.

Eteve G (1985). Breeding for tolerance and winter hardiness in pea. In Hebblethwaite PD, Heath MC, Dawkins TCK (Eds) *The pea Crop: A Basis for Improvement*. Butterworths, London. UK, pp. 131-136.

Yazarı Belirtilmeyen Kurum Yayınları:

TÜİK (2012). Tarım İstatistikleri Özeti. Türkiye İstatistik Kurumu, Yayın No: 3877, Ankara

İnternette Alınan Bilgi:

FAO (2013). Production and trade statistics. <http://www.fao.org/economic/ess/ess-trade/en/> (Erişim tarihi:02.10.2013)

Şekiller ve Tablolar: Şekil, grafik, fotoğraf ve benzerleri "Şekil", sayısal değerler ise "Tablo" olarak belirtilmelidir. Tüm şekil ve tablolar makalenin içine yerleştirilmelidir. Şekil ve tabloların boyu tek sayfa düzeninde en fazla 16x20 cm ve çift sütun düzeninde ise genişliği en fazla 8 cm olmalıdır. Şekil ve tabloların boyutu baskıda çıkabilecek çözünürlükte olmalıdır. Araştırma sonuçlarını destekleyici nitelikteki resimler 600 dpi çözünürlüğünde "jpeg" formatında olmalıdır. Her tablo ve şekle metin içerisinde atıf yapılmalıdır. Tüm tablo ve şekiller makale boyunca sırayla numaralandırılmalıdır (**Tablo 1** ve **Şekil 1**). Tablo ve şekil başlıkları ve açıklamaları kısa ve öz olmalıdır. Şekil ve tablo başlık yazıları 10 punto, şekil ve tabloların içindeki yazılar 9 punto, tablo altı yazılar 8 punto Times New Roman yazı karakterinde olmalıdır. Tablo ve şekillerde kısaltmalar kullanılmış ise hemen altına bu kısaltmalar açıklanmalıdır.

Birimler: Tüm makalelerde SI (System International d'Units) ölçüm birimleri kullanılmalıdır. Ondalık kesir olarak nokta kullanılmalıdır (1,25 yerine 1.25 gibi). Birimlerde "/" kullanılmamalı ve birimler arasında bir boşluk verilmelidir (m/s yerine m s⁻¹, J/s yerine J s⁻¹, kg m/s² yerine kg m s⁻² gibi). Sayı ile sembol arasında bir boşluk bırakılmalıdır (4 kg N ha⁻¹, 3 kg m⁻¹ s⁻², 20 N m, 1000 s⁻¹, 100 kPa, 22 °C gibi). Bu kuralın istisnaları düzlemsel açılar için kullanılan derece, dakika ve saniye sembolleridir (°, ' ve "). Bunlar sayıdan hemen sonra konmalıdır (10°, 45', 60" gibi). Litrenin kısaltması "l" olarak belirtilmelidir. Cümle sonunda değillerse sembollerin sonuna nokta konulmamalıdır (kg. değil kg).

Formüller: Formüller numaralandırılmalı ve formül numarası formülün yanına sağa dayalı olarak parantez içinde gösterilmelidir. Formüllerin yazılmasında Word matematik işlemcisi kullanılmalı, ana karakterler 12 punto, değişkenler italik, rakamlar ve matematiksel ifadeler düz olarak verilmelidir. Metin içerisinde atıf yapılacaksa "Eşitlik 1" biçiminde verilmelidir (...ilişkin model, Eşitlik 1' de verilmiştir).

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi

Fen Dergisi Editörlüğü

42130 Kampüs/KONYA

Faks: 0 332 241 24 99

E-mail: selcukfendergi@gmail.com

Web Sayfası: <http://dergipark.gov.tr/sufefd>

Bazı Lacertidlerde (*Lacerta trilineata s.l.*, *Parvilacerta parva*, *Ophisops elegans*) Karşılaştırmalı Yaş Tayini

Çiğdem KAPLAN¹, Cemal Varol TOK^{2*}

*Sorumlu yazar: cvtok@comu.edu.tr

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ÇANAKKALE
Orcid No: 0000-0001-9323-9157 / cigdemkaplan95@gmail.com

^{2*} Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ÇANAKKALE
Orcid No: 0000-0002-7153-8743 / cvtok@comu.edu.tr

Öz: Yapılan çalışmada, Türkiye'nin Konya iline bağlı Akşehir ve civarından toplanmış olan ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi ZDEU-ÇOMÜ Koleksiyonu'nda bulunan örnekler kullanılmıştır. Lacertidae familyasına ait üç türden toplamda 30 birey (*Lacerta trilineata* 5♂♂, 5 juvenil; *Ophisops elegans* 5♂♂, 5♀♀; *Parvilacerta parva* 5♂♂, 5♀♀) değerlendirilmiştir. Örneklerden alınan falanj, femur ve humerus kemiklerinde iskelet kronolojisi yöntemi ile karşılaştırma yapıp, kemiklere göre yaş halkalarının sayılarında herhangi bir fark olup olmadığına bakılarak, bireylerin mevcut yaşları tespit edilmiştir. Bu türler içerisinde *Lacerta trilineata* türüne ait 5 juvenil örnekte yaş 2 yıl, 5 erkek örnekte ise yaşlar 5-8 arasında değişmektedir. *Parvilacerta parva* erkek örneklerinde yaşlar 4-6 arasında, dişilerde ise 4 ve 5 olarak değişmektedir. *Ophisops elegans* erkek örneklerinde yaşlar 4-6 arasında, dişi örneklerde ise 5-7 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Her üç türdeki tüm örneklerde kesit alınıp incelenen üç farklı kemikte de benzer yaşlar bulunmuştur. Kemiklerin yaş halkaları arasındaki bu benzerlik sebebiyle söz konusu türler ile ilgili yapılacak olan yaş çalışmalarında örneklerin öldürülmeden sadece falanjları ile çalışılabileceği düşünülmektedir. Böylece insan faaliyetleri ve değişen çevre faktörleri nedeniyle zarar gören türlerin bu çalışmalardan olumsuz yönde etkilenmesinin önüne geçilmiş olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Yaş tayini, İskelet kronolojisi, Lacertidae, *Lacerta trilineata*, *Ophisops elegans*, *Parvilacerta parva*

Comparative Age Determination in Some Lacertids (*Lacerta trilineata s.l.*, *Ophisops elegans*, *Parvilacerta parva*)

Abstract: In the study, the samples collected from Akşehir, Konya, Turkey and stored in the Çanakkale Onsekiz Mart University, ZDEU-COMU collection were used. Thirty lizards belonging to the family Lacertidae (*Lacerta trilineata* 5 juveniles, 5 ♂♂; *Ophisops elegans* 5 ♂♂, 5 ♀♀; *Parvilacerta parva* 5 ♂♂, 5 ♀♀) were evaluated. The age of the individuals was estimated after phalanges, femurs, and humeri samples were compared whether if there is any difference in terms of skeletochronological method. Among these species, the age is 2 years in 5 juvenile specimens of *Lacerta trilineata* and the ages of 5 males vary between 5 and 8. The age of male specimens of *Parvilacerta parva* vary between 4 and 6, and the age of females vary between 4 and 5. The age of male *Ophisops elegans* specimens vary between 4 and 6, and the age of females vary between 5 and 7. Similar ages were found in all three different bones that were sectioned and examined in all samples of all three species. Due to this similarity between the LAGs in the cross-sections of the bones, it is thought that phalanges could be used to determine ages without killing the specimens. In this way, the species that are already damaged due to human activities and changing environmental factors will be prevented from being adversely affected by these studies.

Keywords: Age estimation, Skeletochronology, Lacertidae, *Lacerta trilineata*, *Ophisops elegans*, *Parvilacerta parva*

1. Giriş

Lacertidae familyası; Eski Dünya’da (Asya, Avrupa ve Afrika) ve Yeni Dünya’da (Kuzey Amerika’da 5 tür) yayılmış, şu an için tür sayısı 300 kadar olan geniş bir ailedir (Lacerta.de, 2021). Türkiye’de bulunan kertenkelelerin büyük çoğunluğu bu familyaya dahildir (Başoğlu ve Baran, 1977). *Lacerta trilineata* (İri Yeşil Kertenkele), Türkiye’de, Orta Anadolu’nun batısından itibaren tüm Batı Anadolu Bölgesi’nde dağılışı gösterir (Yaşar ve ark., 2021). *Parvilacerta parva* (Cüce Kertenkele); Türkiye’nin Batı, Orta ve Doğu Anadolu Bölgelerinde dağılışı göstermektedir (Yaşar ve ark., 2021). *Ophisops elegans* (Tarla Kertenkelesi) ise Türkiye’nin Doğu Karadeniz Bölgesi hariç hemen hemen her yerinde dağılışı göstermektedir (Baran ve ark., 2012). Bu üç tür de IUCN Kırmızı Listesi’nde LC (Least Concern/Düşük Riskli) kategorisinde yer alır (IUCN, 2021).

Yaş tayini metodu, pek çok canlı türünün yaşını belirlemek için kullanılan bir metottur. Sadece canlının yaşını belirlemek için değil aynı zamanda büyümesini, gelişmesini, yaşam süresini, üreme yaşını ve onları etkileyen çevresel etkenleri de öğrenmek için kullanılabilir (Üzüm, 2006). Kertenkelelerde bu metot için en güvenilir yöntem “İskelet Kronolojisi” yöntemidir ve bu yöntemde kertenkeleden alınan kısa ve uzun kemiklerde yaş halkaları

tespit edilir ve canlının yaşı bu halkalar sayılarak belirlenmiş olur (Yakın, 2012).

Türkiye’de ve Dünya’da kertenkelelerde yaş tayini metoduyla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Castanet ve Baez, 1991; Mouton ve ark., 2005; Guarino ve ark., 2010; Pasko ve Borczyk, 2011; Kumaş, 2013; Gharzi ve Yari, 2013; Yakın ve Tok, 2015; Bülbül ve ark., 2016; Özdemir ve ark., 2017; Kumlutaş ve ark., 2018; Kalaycı ve ark., 2018; Kutrup ve ark., 2019; Üzüm ve ark., 2020). Ancak bu çalışmalar içerisinde bizim çalışmamızda kullanılmış türlerden alınan falanj, femur ve humerus kemiklerinde herhangi bir karşılaştırmalı yaş çalışmasına rastlanmamıştır.

Ülkemizde *Lacerta trilineata* ile yapılan yaş çalışmalarından; Kalaycı ve ark. (2018), Edirne ve Bolu’dan topladıkları örneklerde yaş ve boy bakımından karşılaştırma yapmışlardır. Bolu’daki örneklerin Edirne’deki örneklere göre ortalama yaşının daha büyük olduğu sonucuna varılmıştır. Kutrup ve ark. (2019), Serken-Kırklareli’nden topladıkları örneklerde yaş ve boy karşılaştırması yapmışlardır. Hem dişilerde hem de erkek bireylerde yaş ve boy arasında önemli bir ilişki gözlemlenmemiştir. Büyüme oranına bakıldığında ise cinsiyetler arasında bir fark bulunmamıştır. *Ophisops elegans* ile yapılmış yaş çalışmalarından; Tok ve ark. (2013), Çanakkale ve Akşehir-Eber’den toplanan

örnekleri karşılaştırmıştır. Akşehir-Eber popülasyonunun yaş bakımından daha büyük olduğu sonucuna varılmıştır. Özdemir ve ark. (2017), Çanakkale ve Sivas popülasyonları karşılaştırmıştır. Sivas popülasyonu Çanakkale popülasyonuna göre yaş ve boy bakımından daha büyük bulunmuş olsa da bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yaş ile boy arasındaki pozitif ilişki sadece Çanakkale popülasyonu için geçerlidir. *Parvilacerta parva* ile yapılmış yaş çalışmalarından; Yakın ve ark. (2012), Akşehir-Eber, Konya'dan toplanan örnekleri yaş bakımından değerlendirmiştir. Dişi ve erkeklerde yaş-boy bakımından anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Özdemir ve ark. (2020), Sivas'tan toplanan örneklerde yaş ve boy kıyaslaması yapmıştır. Baş uzunluğu, baş genişliği ve vücut uzunluğunun ölçüldüğü bireylerde yaş ve boy arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Bu çalışmada ise simpatrik yaşayan Lacertidae familyasına ait türler (*Lacerta trilineata*, *Ophisops elegans* ve *Parvilacerta parva*) ve bu türlere ait örneklerden alınan farklı kemikler karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bu sayede bir türe ait aynı örnekte farklı kemikler arasında yaş halkalarının sayısı bakımından bir farklılığın olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada, 2006 ve 2007 yılları arasında Konya iline bağlı Akşehir ve civarından toplanmış ve ZDEU-ÇOMÜ koleksiyonunda bulunan müze örnekleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, *L. trilineata* (5♂♂, 5 juvenil), *O. elegans* (5♀♀, 5♂♂) ve *P. parva* (5♀♀, 5♂♂) olmak üzere üç farklı türden toplam 30 örnek kullanılmıştır. Her bir örneğin vücut ölçümleri 0.01 mm hassasiyetli dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Tür bazında örnek sayısındaki azlık sebebiyle ortalama hesaplamalarında Microsoft Excel 2010 tanımlayıcı programı kullanılmıştır.

Çalışmada her bir örnekte sol arka ekstremitenin (zarar görmüş birkaç örnekte ise sağ arka ekstremiteden) dördüncü ayak parmağından alınan falanj, femur ve sol ön ekstremiteden (zarar görmüş birkaç örnekte ise sağ ön ekstremiteden) alınan humerus kemikleri çıkarılmıştır. Kemikler alındıktan sonra kalsiyumdan arındırmak için %5'lik nitrik asit içerisine koyulmuştur. Her bir doku için, dokunun boyutuna göre değişen saat aralıklarında (falanj 3- 5 saat, humerus 3- 7 saat ve femurlar ise 4- 8 saat arası) %5'lik nitrik asit içinde bekletilmiştir. Yeterli sürede nitrik asit içerisinde kalan kemikler asitten arındırılmak için 24 saat boyunca akan su altında bekletilmiştir. Ardından dehidrasyon işlemi için artan alkol serileri (%70, 80, 96 ve absol) yapılmıştır. Devamında iki saat ksilen içinde

birakılmıştır. Bu işlemin ardından ksilen-parafın içerisine alınarak bir gün boyunca bekletilmiş ve parafine gömülmüştür (McManus ve Mowry, 1964).

Kesitlerin alınmasında Leica 2125 RT marka mikrotom kullanılmıştır. Kalınlığı 14 µm olan kesitler alınmıştır. Preparatlar Ehrlich's Hematoksilin & Eosin ile boyanmış, Olympus CX21 marka ışık mikroskobu ile incelenmiş ve Olympus BX51 marka ışık mikroskobu ve Olympus Analysis LS programı ile fotoğraflanmıştır.

3. Araştırma Sonuçları

Konya iline bağlı Akşehir ve çevresinden toplanmış *L. trilineata* juvenillerinin SVL değerleri 41.18 mm ile 45.31 mm arasında değişmekte olup, yaşları 2 (Şekil 1) olarak tespit edilmiştir. Juvenillerde tespit edilen yaşların falanj, femur ve humerus kemiklerinde değişmediği, aynı olduğu gözlenmiştir. Aynı türün bir örneğinde yaş 5 olarak bulunurken SVL değeri 99.56 mm ölçülmüştür. Diğer erkek örnekler içerisinde ikisi 6 (Şekil 2) yaşında (SVL değerleri; 107.98 mm ve 112.18 mm) ve birisi ise 7 yaşında (SVL değeri; 115.03 mm) tespit edilmiştir. Bir örnek ise 8 yaşında olup, SVL değeri 116.18 mm'dir. Bu türe ait SVL ve yaş değerleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. Tespit edilen tüm yaş değerleri falanj, femur ve humerus olmak üzere her üç kemikte de aynıdır.

Eldeki örneklerle göre eşeyssel olgunluk yaşı ise 3 olarak tespit edilmiştir. *Lacerta trilineata* türü için o bölgeden toplanmış dişi birey bulunmadığından değerlendirme erkek bireyler arasında yapılmıştır.

Parvilacerta parva türünden ise 5 erkek, 5 dişi örnek değerlendirilmiştir. Değerler Çizelge 2'de gösterilmiştir. Erkek örneklerden üçü 4 (Şekil 3) yaşındadır (SVL değerleri; 49.21 mm, 49.78 mm ve 50.66 mm). Diğer iki örneğin yaşı ise 5 olarak bulunmuştur ve SVL değerleri ise 52.02 mm ve 52.38 mm olarak ölçülmüştür. Dişi bireyler içerisinde bir örnekte yaş 4 olup, SVL değeri 44.69 mm olarak; iki örnek 5 yaşında olup, SVL değerleri 52.86 mm ve 53.08 mm olarak ölçülmüştür. İki örnekte ise yaş 6 (Şekil 4) olup, SVL ölçüleri 52.46 mm ve 56.31 mm'dir. Aynı türün tespit edilen tüm örneklerinde yaş değerleri çalışmada karşılaştırılan her üç kemik için benzer bulunmuştur.

Ophisops elegans türüne ait örneklerde de 5 erkek, 5 dişi birey değerlendirilmiştir. Bu değerler Çizelge 3'te gösterilmiştir. Erkek bireyler içerisinde bir bireyde yaş 4 olup, SVL değeri 46.15 mm'dir. İki bireyde 5 yaş gözlemlenmiş, SVL değerleri 47.56 mm ve 49.45 mm olarak ölçülmüştür. İki bireyde yaş 6'dır (Şekil 5). Bu örneklerin SVL değerleri 54.74 mm ve 55.54 mm olarak ölçülmüştür. Dişi örneklerden ikisinde yaş 5 (Şekil 6) olup, SVL değerleri 47.28 mm ile 48.23 mm

olarak ölçülmüştür. İki örnekte yaş 6 olup, SVL değerleri 51.70 mm ve 51.96 mm bulunmuştur. Bir örnekte ise 7 olup, SVL değeri ise 56.15 mm ölçülmüştür. *Ophisops*

elegans türünden incelenen tüm örneklerinde yaş değerleri çalışmada karşılaştırılan her üç kemik için benzer bulunmuştur.

Çizelge 1. *Lacerta trilineata* yaş ve SVL (baş+gövde) değerleri

	Cinsiyet	Adet	Minimum	Maksimum	Ortalama
SVL (mm)	♂♂	5	99.56	116.18	110.18
	juvenil	5	41.18	45.31	42.94
Yaş	♂♂	5	5	8	6.4
	juvenil	5	2	2	2

(mm: milimetre)

Çizelge 2. *Parvilacerta parva* yaş ve SVL (baş+gövde) değerleri

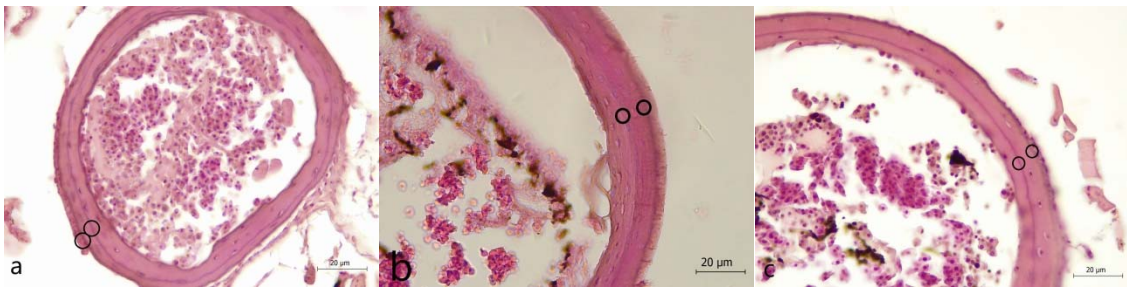
	Cinsiyet	Adet	Minimum	Maksimum	Ortalama
SVL (mm)	♂♂	5	49.21	52.38	50.81
	♀♀	5	44.69	56.31	51.88
Yaş	♂♂	5	4	5	4.4
	♀♀	5	4	6	5.2

(mm: milimetre)

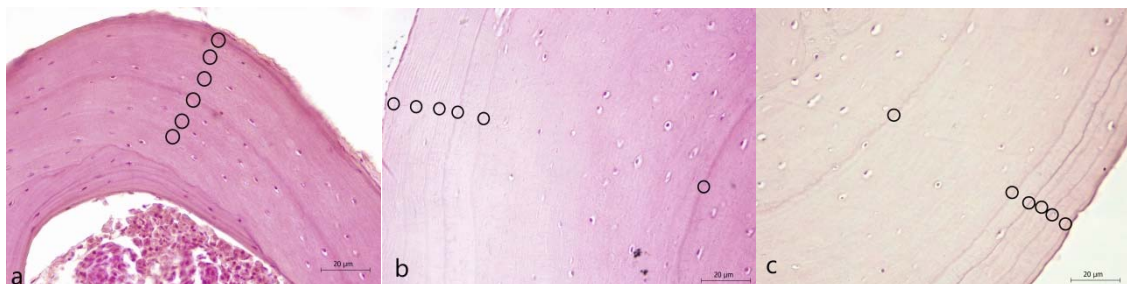
Çizelge 3. *Ophisops elegans* yaş ve SVL (baş+gövde) değerleri

	Cinsiyet	Adet	Minimum	Maksimum	Ortalama
SVL (mm)	♂♂	5	46.15	55.54	50.68
	♀♀	5	47.28	56.15	51.06
Yaş	♂♂	5	4	6	5.2
	♀♀	5	5	7	5.8

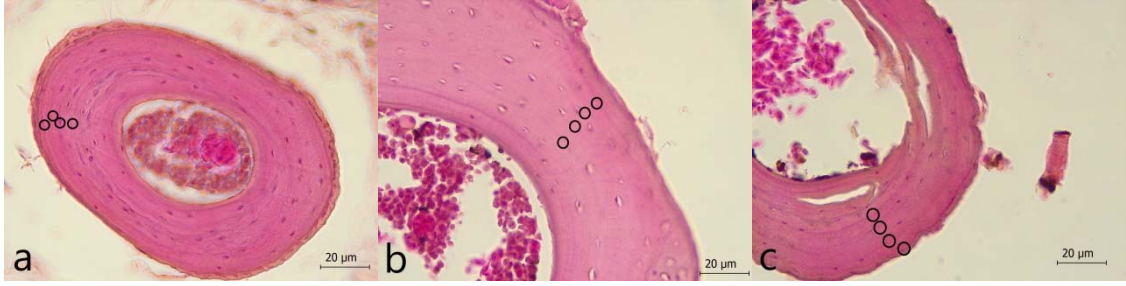
(mm: milimetre)



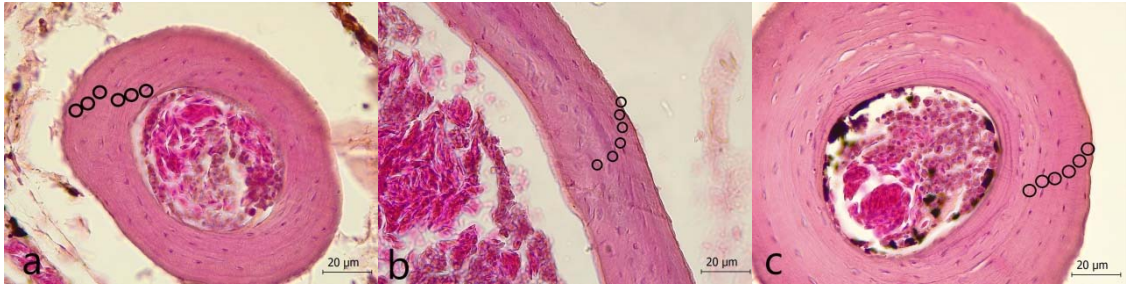
Şekil 1. *Lacerta trilineata* juvenil 2 yaş örnekleri (a. falanj, b. femur, c. humerus)



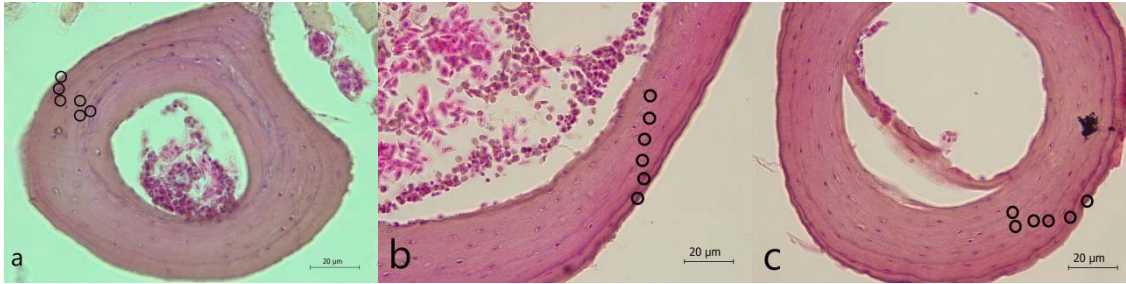
Şekil 2. *Lacerta trilineata* erkek birey 6 yaş örnekleri (a. falanj, b. femur, c. humerus)



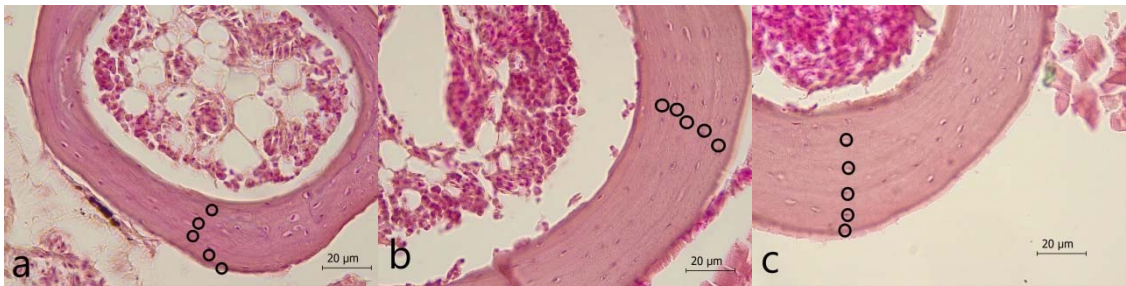
Şekil 3. *Parvilacerta parva* erkek birey 4 yaş örnekleri (a. falanj, b. femur, c. humerus)



Şekil 4. *Parvilacerta parva* dişi birey 6 yaş örnekleri (a. falanj, b. femur, c. humerus)



Şekil 5. *Ophisops elegans* erkek birey 6 yaş örnekleri (a. falanj, b. femur, c. humerus)



Şekil 1. *Ophisops elegans* dişi birey 5 yaş örnekleri (a. falanj, b. femur, c. humerus)

4. Tartışma

Bulunan sonuçlar neticesinde değerlendirilen örneklerin falanj, femur ve humerus kemiklerinde gözlenen yaşlar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır.

Kutrup ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada *L. trilineata* türünün yaşını değerlendirmiştir. Bu çalışmada, Kırklareli bölgesinden topladıkları 14 erkek ve 12 dişi bireyle çalışılmıştır. Sadece falanj kemikleri ile çalıştıklarından parmak alındıktan sonra

bireyleri habitatlarına geri bırakılmıştır. Eşeyssel olgunluk yaşının her iki cinsiyette de 3 yıl olarak bulunduğu çalışmada dişi bireylerde en büyük yaş 10, erkek bireylerde ise 13 yıl olarak tespit edilmiştir. Dişi bireylerde ortalama 8 yaşında olan bireyin SVL değerini 108.51 mm olarak bulurken erkek bireylerde ortalama 9 yaşındaki bireylerin SVL değerleri 110.12 mm ölçülmüştür. Dişi ve erkek bireylerde gözlemlenen bu farklılığın çevresel faktörlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada değerlendirilen bölgedeki örnekler içerisinde *L. trilineata* erkek bireyleriyle karşılaştırıldığında bizim az sayıdaki örneğimizde en büyük yaş 8 olup, bu bireyin SVL değeri 116.18 mm olarak ölçülmüştür. Bu çalışmaya göre bizim çalışmamızdaki örneklerin yaşları daha küçük olmasına rağmen boy olarak daha büyük olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin iklim farklılığı ve yükseltiye bağlı değiştiği söylenebilir (Boretto ve ark., 2018).

Kalaycı ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada Edirne (17 m) ve Bolu (1250 m) bölgesinden toplanmış olan *L. trilineata* örneklerini değerlendirmiştir. Her iki bölgeden de toplanmış olan bireylerin eşeyssel olgunluk yaşları 2 yıl olarak tespit edilmiştir. Bolu örneklerinde en büyük erkek birey 6, en büyük dişi birey de 7 yaşında bulunmuştur. Edirne örneklerinde ise en büyük erkek 5, en büyük dişi de 4 yaşında

bulunmuştur. Bu sonuçlar neticesinde yüksek yerlerde yaşayan erkek bireylerin daha geç olgunlaştığı ancak azalan oksijen sebebiyle boylarının daha küçük olduğu kanaatine varılmıştır. Bu çalışmada da *L. trilineata* juvenillerinin yaşları 2 olarak bulunmuş olup SVL değerleri birbirine benzerdir. Erkek bireylerde ise SVL değerleri yaşla birlikte doğru orantılı olarak artmıştır.

Yakın ve ark. (2012) Konya, Akşehir'den toplanmış 14 adet (5♂♂, 9♀♀) ZDEU- ÇOMÜ koleksiyonundan *P. parva* örneklerinin femurlarında iskelet kronolojisi yöntemiyle yaş yapısını değerlendirmiştir. Dişi bireylerde maksimum yaş 8 yıl iken erkeklerde 7 yıl olarak tespit edilmiştir. Erkek bireylerin SVL değerleri 46.92 mm- 52.51 mm arasında bulunmuştur. Dişi bireylerin SVL değerleri 47.98 mm- 58.62 mm olarak ölçülmüştür. Dişi bireylerin SVL değerleri erkek bireylere göre daha büyük bulunmuştur. Pileus uzunluğu ise tam tersi erkeklerde dişilere göre daha büyüktür. Bizim çalışmamızda da dişi bireyler ile erkekler karşılaştırıldığında dişilerin daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. Yine bu çalışmayla benzer olarak pileus uzunluğu bizim çalışmamızda da erkeklerde daha büyük ölçülmüştür. Bu iki çalışma aynı bölgenin aynı türleriyle yapılmış olduğundan böyle bir benzerlik beklendik bir durumdur.

Özdemir ve ark. (2020) Sivas'tan topladıkları 24 adet (21♀♀, 3♂♂) *P. parva* bireyi ile yaptıkları yaş çalışmasında hayvanların parmak (falanj) kemiklerini kullanmışlardır. Bu çalışmada dişilerde maksimum yaş 7 yıl iken erkeklerde 6 yıl olarak bulunmuştur. Dişilerin SVL değerleri 31.18 mm- 58.76 mm ve erkeklerin SVL değerleri 47.70 mm- 52.82 mm olarak ölçülmüştür. Yüksek bölgelerde hava daha soğuk olduğundan sürüngenlerin aktif dönemleri kısadır. Bu sebeple büyümeleri de yavaş olur. Sivas popülasyonunun Konya popülasyonuna göre daha küçük ebatlarda ve yaşta olmalarının sebebi de bu şekilde yorumlanmaktadır.

Tok ve ark. (2013) Akşehir- Eber, Konya'dan toplanmış olan 43 adet (23♂♂, 20♀♀) *Ophisops elegans* ile Çanakkale'den toplanan 23 adet (13♂♂, 10♀♀) *O. elegans* popülasyonlarında yaş çalışması yapmıştır. Bu çalışma kertenkelelerin femurları kullanılarak yapılmıştır. Çanakkale popülasyonunda dişi bireylerin SVL değerlerini 38.41 mm- 52.63 mm, erkek bireylerin SVL değerleri 40.54 mm- 50.52 mm olarak ölçülmüştür. Akşehir-Eber popülasyonunda ise dişilerin SVL değerleri 46.62 mm- 53.47 mm iken erkeklerinki ise 46.70 mm- 50.35 mm olarak ölçülmüştür. Akşehir- Eber popülasyonunda en büyük yaş 6 olarak bulunurken Çanakkale popülasyonunda 4 olarak bulunmuştur.

Akşehir- Eber örnekleri bizim çalışmamızdaki *O. elegans* örnekleri ile hem yaş hem de boyut bakımından benzerlik göstermektedir. Akşehir- Eber, Çanakkale'ye göre daha yüksek bir konumda olduğundan hava sıcaklığı düşüktür. Bu sebeple kertenkelelerin yüksek yerlerde gelişimi daha geç olmaktadır.

Özdemir ve ark. (2017) *O. elegans* türünün Sivas (1595 m) popülasyonu ile Çanakkale (7 m) popülasyonu arasındaki yaş ve SVL farklılıklarını incelemişlerdir. Çanakkale popülasyonunun dişi bireylerinde SVL 34.41 mm- 74.51 mm arasında iken erkeklerde 36.23 mm- 47.87 mm arasında ölçülmüştür. Dişiler 3-7 yıl aralığında bulunmuşken erkekler 3- 6 yıl aralığında tespit edilmiştir. Dişilerin yaş ortalamasının erkeklerden daha yüksek olduğu kanaatine varılmıştır. Dişilerde yaş ve SVL değeri arasında anlamlı bir korelasyon bulunurken erkeklerde bu ilişki anlamlı bulunmamıştır. Sivas popülasyonunda dişilerin SVL aralığı 43.14 mm- 73.66 mm iken erkeklerde bu aralık 54.00 mm- 76.70 mm olarak ölçülmüştür. Dişiler 3- 6 yaş aralığında erkekler ise 4- 8 yaş aralığında tespit edilmiştir. Çanakkale popülasyonuna ait dişilerin yaş ortalaması Sivas'a göre daha yüksek iken boy uzunlukları daha küçük bulunmuştur. Erkek bireylerde ise Sivas popülasyonunda yaş ve boy uzunluğu bakımından Çanakkale popülasyonuna göre

daha yüksek değerler olduğu saptanmıştır. Sivas popülasyonunun yaş ortalamasının Çanakkale popülasyonuna göre yüksek olmasının istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Yaş ile boy arasında pozitif ilişkiyi sadece Çanakkale popülasyonunun dişi bireylerinde tespit etmişlerdir. Her iki popülasyon içinde erkek bireylerin yaş-boy ilişkisinin anlamsız bulunması sayıca az olmalarından kaynaklanabileceği sonucu çıkarılmıştır. Sivas ile bu çalışmada yer alan Akşehir-Konya arasında rakım olarak fazla fark bulunmadığından Sivas popülasyonu ile Konya popülasyonu bazı yaş ve SVL değerleri bakımından benzer bulunmuştur.

Comas ve ark. (2016) *Psammotromus algirus* bireylerinde “İskelet kronolojisi” yöntemiyle falanj, femur ve humerus kemikleri arasında karşılaştırmalı yaş çalışması yapmıştır. İlgili türden 14 adet birey kullanılmıştır. Tespit edilen sonuçlar neticesinde üç ayrı kemikte de yaşlar aynı bulunmuştur. Bu nedenle özellikle nesli tehlikede olan türler için yaş çalışması yapılmak istendiğinde bunun bireyi öldürmeden sadece falanj kemikleriyle yapılmasının mümkün olduğu belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu çalışmadaki sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Kumaş (2013) *Stellagama stellio* bireylerinde falanj, femur ve humerus kemikleri ile karşılaştırmalı yaş tayini yapmıştır. Dişi bireylerde yaş aralığı 1-4 yıl

iken erkek bireylerde 1-5 yıl olarak bulunmuştur. Femur ve humerus kemiklerinde yaşlar ortak bulunurken falanj kemiklerinde femur ve humerustan bir eksik olarak tespit edilmiştir. Ancak geri hesaplama ile falanj kemiklerinde endosteal resorpsiyon sonucu bir halkanın tamamen kaybolmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle yaş tayini için en uygun kemikler femur ve humerus olmasına rağmen falanj kemiği de doğru sonuçlar verdiği için yaş çalışmalarında kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Varela ve Cabrera (2000) *Tupinambis merianae* (*Salvator merianae*) bireylerinde yaş çalışması yapmıştır. Toplam 17 adet humerus ve 30 adet falanj ile çalışarak karşılaştırma yapılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde karşılaştırma yapılan bu iki kemik arasında yaş bakımından büyük oranda benzerlik bulunmuştur. Bu sebeple yaş tayini çalışmalarında falanj kemiklerinin kullanımı hem bireylerin öldürülmesini önlemek hem de gelecek yıllarda nesillerin büyümesinin izlenebilmesi açısından önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada kemikler arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir (Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6). Bundan sonraki yaş çalışmaları için türleri öldürmeden sadece parmak kemiklerini alarak canlıların tekrar habitatına bırakılmasıyla çalışmaların yapılabilirliği

düşünülmektedir. Böylece söz konusu türlerin neslinin devamını tehlikeye sokmadan, hayvanları öldürmeden parmaktan alınan kemiklerle farklı popülasyonlarında yaş çalışmalarının yapılmasının ve yaşam uzunlukları hakkında gerekli bilgilerin elde edilmesinin mümkün olduğuna inanılmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nde tamamlanmış bir Yüksek Lisans tezidir. Laboratuvar çalışmalarındaki desteğinden dolayı Dr. Batuhan Yaman YAKIN'a teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Baran İ, Ilgaz Ç, Avcı A, Kumlutaş Y, Olgun K (2012). Türkiye Amfibi ve Sürüngenleri. TÜBİTAK, Ankara.
- Başoğlu B, Baran İ (1977). Türkiye Sürüngenleri, Kısım 1. Kaplumbağa ve Kertenkeleler. İlker Matbaa, Bornova-İzmir.
- Boretto JM, Cabezas-Cartes F, Ibarguengoytia NR (2018). Slow life histories in lizards living in the highlands of the Andes Mountains. *Journal of Comparative Physiology* 188: 491–503.
- Bülbül U, Kurnaz M, Eroğlu Aİ, Koç H, Kutrup B (2016). Age and growth of the red-bellied lizard, *Darevskia parvula*. *Animal Biology* 66: 81–95.
- Castanet J, Baez M (1991). Adaptation and evolution in *Gallotia* lizards from the Canary Islands: age, growth, maturity and longevity. *Amphibia-Reptilia* 12: 81–102.
- Comas M, Reguera S, Zamora-Camacho FJ, Salvado H, Moreno-Rueda G (2016). Comparison of the effectiveness of phalanges vs. humeri and femurs to estimate lizard age with skeletochronology. *Animal Biodiversity and Conservation* 39(2): 237–240.
- Gharzi A, Yari A (2013). Age determination in the Snake-eyed Lizard, *Ophisops elegans*, by means of skeletochronology (Reptilia: Lacertidae). *Zoology in the Middle East* 59 (1): 10–15.
- Guarino FM, Gia ID, Sindaco R (2010). Age and growth of the sand lizards (*Lacerta agilis*) from a high alpine population of North-Western Italy. *Acta Herpetologica*, 5(1): 23-29.
- <https://www.iucnredlist.org> (Erişim Tarihi: 15.03.2021)
- <https://lacerta.de/AS/Home.php> (Erişim Tarihi: 15.03.2021)
- Kalaycı TE, Gül Ç, Tosunoğlu M, Özdemir N (2018). On the age structure of two samples of *Lacerta trilineata* BedriaGa, 1886, from different altitudes in Turkey. *Herpetozoa* 31 (1/2): 3–9.
- Kumaş M (2013). Türkiye'deki *Laudakia stellio* (Linnaeus, 1758) (Reptilia: Sauria: Agamidae) popülasyonlarında yaş tayini ve uzun kemik histolojisi. *Doktora Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, İzmir, Türkiye.

- Kumlutaş Y, Üzüm N, Avcı A, Güler H, Ilgaz Ç, Candan K (2018). Comparison of the body size and age structure of Lebanon lizard, *Phoenicolacerta laevis* (Gray, 1838) at different altitudes in Turkey. *Vertebrate Zoology* 68(1): 83–90.
- Kutrup B, Odabaş Y, Bülbül U, Eroğlu A İ, Koç H, Kurnaz M (2019). Age structure and growth in a Turkish population of the Balkan Green Lizard, *Lacerta trilineata* Bedriaga, 1886. *Herpetozoa* 31 (3/4): 183–193.
- McManus JFA, Mowry RW (1964). Staining methods: Histologic and histochemical. 1st ed. London, UK: Hoeber International.
- Mouton P, le Fras N, Curtin AJ, Chinsamy A (2005). Bone growth patterns in two cordylid lizards, *Cordylus cataphractus* and *Pseudocordylus capensis*. *African Zoology* 40(1): 1–7.
- Özdemir N, Altunışık A, Kalaycı TE, Uysal İ, Tosunoğlu M (2017). Tarla kertenkelesi (*Ophisops elegans*) (Sauria: Lacertidae)'nin farklı rakımlarda yaşayan iki popülasyonunda yaş tayini. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi* 1: 11–14.
- Özdemir N, Kalaycı TE, Uysal İ, Gül Ç (2020). Body size and age structure of the *Parvilacerta parva* (Boulenger, 1887) population from Sivas, Turkey. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 10(1): 39–44.
- Pasko L, Borczyk B (2011). How precise are size-based age estimations in the sand lizard (*Lacerta agilis*)? *Zoologica Poloniae* 56(1-4): 11–17.
- Tok CV, Hayretdağ S, Gürkan M, Yakın BY (2013). Age determination in some *Ophisops elegans* Ménétrières 1832 (Sauria: Lacertidae) populations living in the vicinity of Çanakkale and Akşehir-Eber. *Ecologia Balkanica* 5(2): 23–30.
- Üzüm N (2006). Türkiye'deki *Triturus karelinii* (Strauch 1870) (Urodela: Salamandridae) Popülasyonlarında yaş tayini: popülasyonların büyüme, yaş ve boy bakımından karşılaştırılması. *Doktora Tezi*, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 182.
- Üzüm N, Beşer N, Ilgaz Ç, Kumlutaş Y, Candan K, Güçlü Ö (2020). Age and growth in two populations of Danford's lizard, *Anatololacerta danfordi* (Günther, 1876), from the eastern Mediterranean. *Turkish Journal of Zoology* 44: 173–180.
- Varela CFD, Cabrera MR (2000). Testing skeletochronology in black tegu lizards (*Tupinambis merrianae*) of known ages. *Herpetological Review* 31 (4).
- Yakın BY, Tok CV, Hayretdağ S, Gürkan M (2012). Preliminary data on age estimation and body size of the dwarf lizard, *Parvilacerta parva* (Boulenger, 1887) (Reptilia: Lacertilia) from Akşehir, Konya (Turkey). *Ecologia Balkanica* 4(1): 81–85.
- Yakın BY, Tok CV (2015). Age estimation of *Anatololacerta anatolica* (Werner, 1902) in the vicinity of Çanakkale by skeletochronology. *Turkish Journal of Zoology* 39: 66–73.
- Yaşar Ç, Çiçek K, Mulder J, Tok CV, (Baskıda). The distribution and biogeography of Amphibians and Reptiles in Turkey. *North Western Journal of Zoology* 2020, e201512.

Hücre Kültürlerine Genel Bakış

Harika Eylül ESMER DURUEL^{1*}, Nazlı Sevim ÇAĞAN², Serra IŞIK³, Figen Esin KAYHAN⁴

*Sorumlu yazar: harikaeylul@gmail.com

¹ Kahramanmaraş İstiklal Üniversitesi, Elbistan Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı, KAHRAMANMARAŞ

Orcid No: 0000-0002-0792-2062 / harikaeylul@gmail.com

² Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Programı, İSTANBUL

Orcid No: 0000-0002-4397-517X / nazlicagan@gmail.com

³ Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Programı, İSTANBUL

Orcid No: 0000-0002-8298-2612 / isikserraa@gmail.com

⁴ Marmara Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İSTANBUL

Orcid No: 0000-0001-7754-1356 / fekayhan@marmara.edu.tr

Öz: Hücre kültürü yöntemi, biyoteknolojik bağlamda geliştirilen bir yöntem olup hücrelerin laboratuvar şartlarında ve özel koşullar altında, doğal ortamlarının dışında yetiştirilmelerini ifade eder. İlk olarak yetişkin kurbağa sinir liflerinin, lenf sıvıları içerisinde büyütülmesi ile hayatımıza girmiştir. Geçmişten günümüze çalışılmakta olan hücre hatlarının gereksinimlerinin birbirlerinden farklı oldukları belirlenmiştir. Bu farklılıklar göz önünde bulundurularak doku, vasat ve ortam koşulları değiştirilmiş ve günümüzde kullanımı devam etmekte olan farklı hücre hatları ile kültür yöntemleri bulunmuştur. Günümüzde farmasötik, tıbbi ve biyolojik araştırmalarda çeşitli hücre hatları kullanılmaktadır. Bu hücre hatları, hücre biyolojisi ile doku morfolojisinin anlaşılması ve bu sayede doku mühendisliğinin geliştirilmesi için kullanılmaktadır. Genel olarak iki boyutlu hücre kültürü modeli kullanılıyor olsa da son zamanlarda üç boyutlu hücre kültürü modelleri de tercih edilmektedir. Besiyerleri farklı ihtiyaçlara yönelik hizmet etseler de genel olarak ortak bazı bileşenlerin hücre kültürü ortamları için son derece önemli olduğu bilinmektedir. Bu ortak bileşenler incelendiğinde özellikle karbonhidrat kaynakları ve serum ilk sıralarda yer almaktadır. Bunun en temel nedeni karbonhidratların temel enerji kaynaklarını oluşturması ve serumun ise gerekli büyüme faktörlerinin yanı sıra farklı hormon ve bileşenler içermesidir. Hücre kültürü uygulamalarında vasat kimyasal bileşenleri kadar hücrelerin bulunduğu ortamın çevresel faktörleri de hücre büyümesi ve devamlılığı açısından önemlidir. Ayrıca hücre kültürü yöntemlerinde hijyen konusuna hassasiyet gösterilmelidir. Çünkü kültür ortamı, kimyasal bileşenler ve çevresel faktörler birlikte ele alındığında aseptik koşullarda çalışılmaz ise kontaminasyon riski ortaya çıkmaktadır. Bu derlemede hücre kültürü yöntem ve uygulamalarına genel bir bakış açısı sunulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Hücre kültürü, hücre vasatı, kontaminasyon, hücre hattı, büyüme faktörleri

Overview of Cell Cultures

Abstract: Cell culture method is a method developed in a biotechnological context and refers to the cultivation of cells outside of their natural environment under laboratory conditions and special conditions. It first came into our lives with the enlargement of adult frog nerve fibers in lymph fluids. Studies have shown that the needs of cell lines are different from each other. Considering these differences, tissue, media and environment conditions have been changed and different cell lines and culture methods that are in use today have been found. Various cell lines are currently used in pharmaceutical, medical and biological research. Cell culture studies are carried out to understand the biological structure and tissue morphology of the cell, thus improving tissue engineering. Although two-dimensional cell culture models are generally used, three-dimensional cell culture models are also preferred recently. Although the media serve for different needs, it has been found that some common components are extremely important for cell culture media in general. When these common components are examined, especially carbohydrate sources and serum are in the first place. Since carbohydrates are the main energy sources and serum contains different hormones and components as well as necessary growth factors, it is added to the medium. In cell culture practices, the environmental factors of the environment where

the cells are located and the chemical components of the environment are important for cell growth and continuity. In addition, cell culture methods should be sensitive to hygiene. Because when the culture environment, chemical components and environmental factors are taken together, if the aseptic conditions are not studied, there is a risk of contamination. In this review, an overview of cell culture methods and applications will be presented.

Keywords: Cell culture, cell medium, contamination, cell line, growth factors

1. Giriş

Hücre kültürü, hücrelerin doğal ortamlarının dışında kontrollü şartlar altında yetiştirilmeleridir. Ayrıca hücre kültürü sistemleri, canlı hayvan testlerine alternatif olarak büyük potansiyele sahiptir. Yetiştirilecek hücre tipine bağlı olarak, vasat gereksinimleri değişir. Hücrelerin doğru bir şekilde büyümesini sağlamak için hücre kültürü sırasında farklı parametreleri ve koşulları sürekli olarak kontrol etmek gerekmektedir. Bu koşullar hücrelerin canlı kalmasını ve büyümesini sağlayan aminoasitler, karbonhidratlar, mineral ve vitaminlerin yanı sıra hormon, karbondioksit, oksijen ve antibiyotik gereksinimleridir. Fizikokimyasal koşullar olarak ortamın pH ve sıcaklığı da kontrol gerektiren diğer şartlardır (States, 2019).

19. yüzyıldan sonra hücre kültürü teknikleri gelişmelerine devam ederek günümüze kadar ulaşmıştır. İlk olarak uygulanmış olan kurbağa sinir hücrelerinden itibaren, değişen hücre tipine spesifik olarak farklı hücre yaşam ortamları ve hücre kültürü yöntemleri geliştirilmiştir. Geçmişten günümüze kadar hücre hatlarının gereksinimleri doğrultusunda çeşitli hücre

kültürü yöntemleri ve hücre yaşama ortamları geliştirilmiştir (Jedrzejczak-Silicka, 2017).

2. Tarihte İlk Uygulama Yapılan Hücreler

Amerikalı embriyolog Harrison (1870–1959), yirminci yüzyılın başlarında hücre kültürü uygulamalarının ilk tekniklerini geliştirdi. 1907’de Harrison, yetişkin bir kurbağanın lenf bezlerinden elde edilmiş taze lenf sıvısında birkaç hafta boyunca kurbağanın sinir liflerinin belirgin büyümesini başarıyla gerçekleştirdi. Bu deney hayvan hücre kültürü uygulamalarının başlangıcı olarak kabul edildi ve daha sonra kan plazması çeşitli hayvan hücreleri için önemli bir kültür ortamı haline geldi (Harrison, 1907). Ayrıca Harrison’ın yöntemi, mikrobiyolojik teknikten uyarlanmasına ve bakteri çalışmaları için kullanılmasına rağmen (1880’lerde Robert Koch tarafından icat edildi ve ilk olarak şarbon basili büyümesi için kullanıldı), hayvan hücre kültürü uygulamalarında da başarıyla uygulanmıştır (Jedrzejczak-Silicka, 2017).

Carrel ve Burrows, tavuk plazmasının kullanıldığı hücre kültürü yöntemlerini uyguladı. Çünkü plazma elde etmek daha kolay bir uygulamadır, ayrıca hazırlama süreci daha güvenilirdir (Carrel ve Burrows, 1911). Ocak 1912'de Carrel, eksplante edilmiş embriyonik tavuk kalp dokularından oluşturulmuş ilk "hücre hattını" geliştirdiler (Carrel, 1912). Daha sonra da memeli hücrelerinin kontrollü laboratuvar koşullarında yetiştirilmesi sağlandı (Landecker, 2002). 1911'de Lewis ve Lewis, dengeli salin solüsyonlarına amino asitler, bulyon ve glikoz (veya maltoz) eklenmesiyle civciv embriyo hücresi yetiştiriciliğinin iyileştirilebileceğini bildirdiler (Lewis ve Lewis, 1911).

1940'ta ise Earle ve arkadaşları, ölümsüz fare fibroblastlarını (L hücreleri) başarılı bir şekilde oluşturmak için kanserojenleri kullanarak tek bir hücreden çoğalmanın mümkün olduğunu ispatladılar (Earle ve ark., 1943). 1951'de Gey, rahim ağzı kanseri olan bir hastanın dokusundan sonsuz çoğalan bir insan hücre hattı olan HeLa hücrelerini meydana getirdiler. Normal dokulardan oluşturulan hücre hatları sınırlı büyüme gösterirken, kanserli dokulardan elde edilen hücre hatlarının sonsuza kadar çoğalmayı başardığını keşfettiler (Gey, 1952).

Gelişmeler devam ettikçe iki boyutlu hücre modelleri yaygın olarak kullanılmaya başlandı. İki boyutlu hücre kültürü; flask

veya petri kapları kullanılarak yapılmaktadır. Hücreler buradaki yüzeye tek tabaka halinde tutunmuş durumdadır. Son zamanlarda bu yönteme ek olarak bazı çalışmalarda üç boyutlu kültür yöntemi de araştırmalarda yer almaktadır. Üç boyutlu hücre kültürü uygulamalarında, vericinin dokularından hücreler alınarak çok hücreli ve üç boyutlu yapılarda kültürlenir. Üç boyutlu hücre kültürü doku yapısını taklit elde etmek için oluşturulan uygun hücre-hücre ve hücre-çevre etkileşimlerin daha iyi gözlenebilir olmasına olanak sağlar (Kapałczyńska ve ark., 2018). Üç boyutlu hücre kültürü tekniklerinin gelişmesi ile doku mühendisliği alanında ilerlemeler kaydedilmiştir. Doku mühendisliği teknikleri genel olarak; otolog dokudan elde edilen hücrelerin amplifikasyonunu veya kök hücrelerin farklılaşmasını, hücrelerin geçici üç boyutlu tabakaya ekilmesini ve tasarlanmış dokular oluşturmak için yapı içindeki hücrelerin üç boyutlu kültürlenmesini içermektedir (Chung ve Burdick, 2008). Günümüzde hücre kültürünün kullanılacağı araştırmalar için ticari olarak farklı hücre hatlarının temini firmalar tarafından sağlanmaktadır.

3. Hücre Kültürü Vasatı Tarihçesi

Fischer 1948 yılında yaptığı bir çalışmayla, diyaliz edilmiş seruma belirli aminoasitleri ekleyerek, hücrelerin metabolik olarak desteklenebildiği bir vasat

oluşturulabileceğini gösterdi (Fischer, 1948). 1955'te Eagle, Fischer'in yöntemini temel alarak, gerekli minimum miktarlarda düşük moleküler ağırlıklı bileşenleri inceledi ve ilk kısmen kimyasal olarak tanımlanmış vasat olan EMEM (Eagle's Modified Essential Medium)'i geliştirdi (Eagle, 1955). Eagle, geliştirdiği bu hücre vasatında karbonhidrat kaynağı olarak genellikle glikoz ve galaktoz (bazen maltoz veya fruktoz), amino asitler, vitaminler, yağ asitleri, lipidler ile çinko ve bakır gibi eser elementleri ve az miktarda serumun yanı sıra, hücre büyümesi için en verimli katkı maddeleri gibi besin karışımlarını kullandı. Eagle daha sonra 1955'te farklı hücrelerin amino asit gereksinimlerini inceleyerek minimum temel ortamı (MEM)'i geliştirdi. EMEM, serum içerse de, formülasyonu günümüzde yaygın olarak kullanılan birçok hücre kültürü vasatının temelini oluşturmaktadır (Eagle, 1955). Örneğin; Dulbecco ve Freeman'ın DMEM'i (Dulbecco ve Freeman, 1959), EMEM'e göre dört kat fazla aminoasit ve vitamin konsantrasyonu içeren Eagle ortamının değiştirilmiş bir versiyonudur (Henschler, 2018).

Ham, 1963'te F10 vasatını geliştirdi. Serum yerine iki tür serum protein fraksiyonu (albümin ve fetuin) kullandı. Serumsuz koşullar altında tek bir Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücresinin bir koloni oluşturmasını başarıyla sağladı.

Kimyasal olarak tanımlanmış bir Ham's F12 geliştirmek için Ham's F10'u değiştirdi. Biyolojik kökenli albümin ve fetuini, düşük moleküler ağırlıklı maddeler olan linoleik asit ve putrescine ile değiştirdi ve tamamen sentetik bir vasat olan Ham's F-12'yi geliştirdi (Ham, 1963). Ham's F12 vasatı, CHO hücrelerinin klonal büyümesini destekleyebilen tamamen sentetik, kimyasal olarak tanımlanmış ve serumsuz bir ortamın erken başarılı bir örneğiydi. Mather ve Sato daha sonra, Ham's F12'nin Dulbecco ortamıyla karıştırılarak ve ek olarak hormonlar, büyüme faktörleri ve transferrin ile takviye edilerek DMEM / F12 adlı yeni bir formülasyon oluşturarak iyileştirilebileceğini belirlediler (Mather ve Sato, 1977).

4. Hücre Kültürü Ortamı

Farmasötik, tıbbi ve biyoteknolojik araştırmalarda yaygın olarak uygulanan hücre kültürü çalışmalarının başarısında özellikle sıcaklık, pH değeri, oksijen ve karbondioksit seviyeleri ile glikoz konsantrasyonunun büyük etkisi bulunmaktadır (Price, 2017). Bir vasat tipik olarak tuz, besinler, antibiyotikler ve hücre metabolizmanın gerçekleşmesi için gerekli herhangi bir bileşene sahip pH dengeli bir sıvıdan oluşur. Ayrıca bir vasat, hücre bölünmesi için gerekli her türlü vitamin veya hormonları da içerir (Schwartz ve Ronnekleiv-Kelly, 2019). Kimyasal olarak tanımlanmış bir vasat;

karbonhidratları, aminoasitleri, büyüme faktörlerini, lipitleri, poliaminleri, eser elementleri ve vitaminleri içeren yaklaşık on ila yüz bileşenden oluşmaktadır (Wahrheit ve ark., 2014). Vasattaki glikoz ve glutamin, en temel enerji kaynaklarıdır. Glikoz; nükleositler ve bazı aminoasitler için karbon kaynağı olarak işlev görmektedir. Konsantre L-glutamin çözülmesi ve tek kullanımlık alikotlara konulmalı ve dondurucuda saklanmalıdır. Kültüre edilen hücreler için gerekli amino asitler L- formdaki arginin, izolösin, histidin, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan, valin, izolösin, sistein, tirozin, lösin, ve glutamin'dir. Eagle tarafından tanımlanan esansiyel olmayan amino asitler, L formdaki alanin, glutamik asit, serin, asparagin, aspartik asit, prolin ve glisin'dir. Kimyasal olarak tanımlanmış bir ortam, protein veya peptit içermez, bu nedenle insülin için bir ikame (önemli bir büyüme faktörü) gereklidir (Price, 2017).

Ortam pH'ı genellikle çalışma sırasında değişebilir; Na_2CO_3 ve CO_2 ile nötre yakın bir aralıkta kontrol edilebilir (Sung ve ark., 2004). İyi bir hücre kültürü performansı elde etmek için doğru pH kontrolü şarttır. 4- (2-Hidroksietil)-1-piperazinetsülfonik asit (HEPES), vasat ortamlarında, 7.2-7.4 pH aralığında üstün bir tamponlama kapasitesi gösteren kimyasal bir tampondur (Media ve Properties, 2010). HEPES kullanımı sırasında kontrollü bir gaz atmosferine gerek duyulmamaktadır.

Bikarbonat sisteminin aksine daha pahalı olup, flüoresan ışığın vasatta neden olduğu fototoksik etkilerine duyarlılığını arttırmaktadır (Shipman, 1969).

4.1. Osmolarite ve Dengeli Tuz Çözeltisi

1882'de Ringer, dengeli bir tuz çözeltisi olan Ringer solüsyonunu geliştirdi. Bu solüsyon vücut sıvılarına yakın bir bileşimdi ve kurbağa kalplerinin diseksiyonundan sonra başarılı bir şekilde atmasını sağladı (Ringer, 1882). Bu dengeli tuz solüsyonu, modern kültür ortamının temeli olarak kabul edilir. Dengeli tuz çözeltisinde bulunan potasyum (K^+), sodyum (Na^+), magnezyum (Mg^{++}) ve kalsiyum (Ca^{++}) gibi katyonlara ek olarak, çinko, selenyum, demir ve bakırın belirli konsantrasyonlarda kullanılmasının hücre gelişimi için önemli olduğu gösterilmiştir (Wang, 2006). Ancak bu katyonların ve diğer geçiş metallere yüksek konsantrasyonları hücreler için toksik etki göstermektedir. Dengeli tuz çözeltisi, bir çözeltideki ana katyonları, anyonları ve ayrıca pH'ı istenen fizyolojik aralığında tutan tamponları içerir (Singh ve ark., 2021). Fizyolojik çözeltilerdeki dört ana katyon Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} ve K^+ 'dur. Na^+ ve K^+ katyonları, başlangıç ozmolaritesinin belirlenmesinde ve ozmotik dengenin korunmasında anahtar rol oynar. Ca^{++} ve Mg^{++} katyonları, hücrelerin birbirine ve bir substrata bağlanması için ve enzimatik

reaksiyonlarda ko-faktörler olarak önemlidir (Price, 2017).

4.2. Vitaminler

Vitaminler, spesifik hücre içi işlevler için gerekli olan bir grup organik bileşiktir. Bu bileşikler hücrede, enzim kofaktörleri, antioksidanlar veya hormonlar olarak hareket edebilmektedir. *In vivo* olarak sentezlenemediklerinden, hücrel ihtiyaçların karşılanması amacıyla dışarıdan alınmaları gerekmektedir (Schnellbaecher ve ark., 2019). Başlıca A, D, E ve K olmak üzere vitaminler, albumine bağlanarak taşınmaktadır (Combs, 2012). EMEM vitaminleri, ko-enzimlerin bileşenleri olan B grubu vitaminleri ile lipid sentezinde substrat görevindeki kolin ve inositolden oluşmaktadır. Askorbik asit veya C vitamini, hücre büyümesi için optimal pH ve sıcaklıktaki çözelti içinde çok kararsızdır (Schnellbaecher ve ark., 2019).

4.3. Lipitler

Lipitler; bir enerji kaynağı olarak, hücrelerde sinyal iletiminde, madde taşınmasında ve biyosentezinde ek olarak membranların yapısında yer aldığı için önemlidir. Serumdaki albümin; serbest yağ asitleri ve lipoproteinler için bir taşıyıcı görevi görmektedir. Pek çok hücre tipi, yağ asitleri, fosfolipidler veya kolesterol eklenmeden, serumsuz ortamda kültürde büyütülebilirken, bazıları için kesin bir ihtiyaç veya büyüme veriminde önemli bir artış gösterir (Price, 2017).

4.4. Serum

Serum, gerekli hormonları, taşıma proteinlerini, büyüme faktörlerini, ayrışma faktörlerini, bağlanma faktörlerini ve proteaz inhibitörlerini sağlayarak hücre büyümesini destekler. Bununla birlikte, hücre kültüründe serumun sürekli kullanımı da birçok dezavantaja sahiptir. Bu dezavantajlar, bakteriler, mikoplazma, virüsler, endotoksinler ve prionlar gibi çok çeşitli kirletici maddelerdir (Yao ve Asayama, 2017). Potansiyel mikrobiyal kontaminantları inaktive etmek için işlenmiş serum önerilmektedir (Nims ve Harbell, 2017).

Hücre kültüründe en yaygın olarak kullanılan serum türü fetal sığır serumudur (FBS). Serumlar daha seyrek olarak at, domuz gibi diğer hayvan türlerinden de elde edilebilir. Mevcut çeşitli sığır ve sığır dışı serum kategorilerinden, hücre kültürü ortamı için en yaygın olarak kullanılanı FBS olmuştur (Verma ve ark., 2020). Bunun nedenleri ise şunlardır:

- FBS, özellikle hücre büyümesini destekleyen yüksek düzeyde maddeler içermektedir.
- FBS, yenidoğan veya yetişkin sığır serumları ile karşılaştırıldığında daha düşük seviyelerde immünoglobulin içerir.
- FBS, yenidoğan veya yetişkin sığır serumuna göre daha düşük miktarlarda tamamlayıcı içerir (Piletz ve ark., 2018).

Serumlar ışıktan korunmalı ve dondurulmuş olarak saklanmalıdır. Çok sayıda dondurma ve çözündürme işlemine tabi tutulmamalıdır. Serumu saklamak için önerilen sıcaklık aralıkları -5 ile -20 arasında değişir (Arora, 2021). Her kullanım için serum alikotları hazırlanmalıdır ve bunları uygun şekilde saklamak gerekmektedir. Hücre kültürü vasatındaki serumun ana işlevleri aşağıdakilerdir:

- Hormonlar, mineraller, eser elementler ve lipitleri taşıyan proteinleri nakletmek,
- Bağlanma ve yayılma faktörleri (yani hücre dışı matrisin bileşenleri) olarak,
- pH'ı korumak veya proteazları inhibe etmek için, stabilize ve detoksifiye edici faktörlerle direkt olarak etki gösterilebilir. Proteazlar ve toksik moleküller için spesifik olmayan faktörlerle de indirekt etki gösterilebilir (Nims ve Harbell, 2017).

4.5. Serumsuz Vasat

Birçok hücre hattı, serumsuz vasat kullanılarak özel olarak tasarlanmış ortamda büyütülebilir (Verma ve ark., 2020). Bu hücre hattına özgü ortam, deneylerin güvenilirliğini değiştirebilecek ve enfeksiyonlara yol açabilecek kalite ile ilgili sorunları ortadan kaldırabilir. Serumlar, virüslerin bilinen taşıyıcılarıdır ve bulaşıcı materyallerin girme potansiyeli hakkında bilgi sahibi olunmalıdır (Schwartz ve Ronnekleiv-Kelly, 2019). Tipik olarak

serumsuz ortam, hidrolizatlar, aminoasitler, vitaminler ve inorganik tuzlar dahil olmak üzere bir dizi hücre büyüme faktöründen oluşur ve tanımlanmamış karakterle ilişkili risklerin en aza indirilmesine ve serum içeren ortama kirletici maddelerin potansiyel girişine izin verir (Krattenmacher ve ark., 2018). Serumsuz ortam aynı zamanda, kompleks kirleticiler içeren serum albümin (kandan saflaştırılmış), hormonlar, taşıyıcı proteinler ve bağlanma faktörleri gibi tanımlanmamış hayvandan türetilmiş ürünler de içerebilir (McGillicuddy ve ark., 2018).

EMEM, MEM ve DMEM; kanser hücrelerine yalnızca sürekli çoğalmaları için gerekli olan besinleri sağlamak üzere tasarlanmıştır. Spinner-MEM (S-MEM), DMEM'de bulunan amino asitlerin daha düşük konsantrasyonlarına ve ek proteinojenik (örneğin, alanin, glutamat) ve proteinojenik olmayan amino asitlere (örneğin ornitin, sitrülün) sahiptir, ancak yine de insan plazmasında normalde bulunan birçok polar metabolitten yoksundur (Ackermann ve Tardito, 2019). S-MEM, kalsiyum tuzu içermez ve kalsiyum seviyeleri farklı konsantrasyonlarda ayarlanabilmektedir (Price, 2017).

Sık kullanılan diğer bir hücre kültürü ortamı olan F12, azaltılmış serum takviyesi altında CHO hücrelerinin klonal büyümesi için optimize edilmiştir (Bryant ve ark., 2019). Geliştirilecek kimyasal olarak tanımlanmış ilk serumsuz hücre kültürü

ortamı, DMEM ve Ham's F12 ortamının 1:1 (v/v) karışımı olan vasattır (van der Valk ve ark., 2010). DMEM'deki aminoasitlerin dengesi ve F12 ortamı tarafından sağlanan eser elementler hücrelerin serumsuz kültürlenmesine izin verir. Bu ortamlarda hücrelerin büyümesi için serum takviyesi gerekli değildir. Aminoasitler, proteinlerin temel yapı taşlarıdır ve hücre iskeleti, enzimlerin protein bileşeni, reseptörler ve sinyal molekülleri dahil olmak üzere hücrenin tüm proteinli materyalini mantıksal olarak oluştururlar (Salazar ve ark., 2016). Sonuç olarak, ortam genellikle insan sıvılarında normal olarak bulunan metabolitlerden yoksundur, ancak glikoz, glutamin veya piruvat gibi moleküller genellikle süperfizyolojik konsantrasyonlarda bulunur (Ackermann ve Tardito, 2019).

4.6. İnsülin

Vogelaar ve Erlichman 1933 yılında, önceki çalışmaların aksine insülin ve tiroksin hormonunun etkinliğini kanıtladı. İki araştırmacı, Ringer solüsyonu, insülin ve tiroksin ile birlikte glikoz, sistein, hemin, pepton ve kan plazmasının bulunduğu vasatta 3 aydan daha uzun süre insan fibroblast hücrelerini çoğaltmayı başardı. İnsülin ve insülin analogları serumsuz vasatta kullanılan en yaygın büyüme faktörleri arasındadır. Bununla birlikte, hücre çoğalması üzerindeki etkilerinin hemen hemen her zaman serumun

etkisinden daha düşük olduğu bulunmuştur (Vogelaar ve Erlichman, 1933).

4.7. Antibiyotik

In vitro çalışmalar sırasında oluşabilecek kontaminasyonu önlemek amacıyla vasat ortamını antibiyotikler ile desteklemek önemlidir. American Type Culture Collection (ATCC) tarafından yayınlanan standart hücre kültürü protokolünde önerilen penisilin (100U/mL) ve streptomisin (100µg/mL) (% 1 v/v) kombinasyonu, en sık kullanılan antibiyotik takviyelerindedir (Hassan ve Ahmad, 2020). Buna ek olarak gentamisin ve yaygın antifungal aktivitesi sebebiyle amfotersin B de kültür ortamında sıklıkla önlem olarak kullanılmaktadır (Ryu ve ark., 2017). Ancak kültür ortamına eklenen antibiyotiklerin, sitotoksositeye sebep olabileceği ve hücrelerin biyolojik özelliğini değiştirebileceği öne sürüldüğünden dikkatli kullanılmaları gerekmektedir (Hassan ve Ahmad, 2020).

5. Hücre Kültürü Uygulaması İçin Gerekli Çevresel Faktörler

Hücre kültürü deneylerinin optimum performansı ve stabilitesi için hücre kültürü koşulları standardize edilmelidir. Bunun için hücre yoğunluğuna göre hücre ortamının periyodik bir şekilde değiştirilmesi gerekmektedir. Uygulama zamanında sapma olması durumunda optimal pH'dan uzaklaşma görülür. pH değişimi hücre döngüsünü, hücre büyümesini ve

farklılaşmasını etkileyen ve aynı zamanda DNA hasarına ve genomik kararsızlığa neden olan bir durum ortaya koyar. Vasat ortamının pH'sı, gaz fazındaki CO₂ konsantrasyonu ile kültür ortamındaki sodyum bikarbonat (NaHCO₃) konsantrasyonu arasındaki denge ile korunur. Doğal tamponlama sistemine sahip vasat ortamları genellikle %5-10 CO₂ desteğiyle, bir CO₂ inkübatöründe muhafaza edilir. Ortam pH'ının kontrolü için kullanılan bu sistem pratik, ekonomik ve toksik olmaması sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedir (Rothblat, 2012).

Tamponlar asitliği kontrol etmek için kültür ortamına dahil edilse de değişen pH rutin olarak izlenemez. Bileşenler bozulduğunda, bu bir vasat stabilitesi sorunu haline gelir. Fenol kırmızısı boyası, araştırmacıların ortam asiditesini ölçmesine olanak sağlamak için ortama dahil edilir. Bu tür bir değerlendirme "doğrudan gözle izleme" yoluyla yapılabilir. Daha hassas bir ölçüm için ise bir plaka okuyucu ile absorbans değeri hesaplanarak yapılabilmektedir (Michl ve ark., 2019).

6. Kontaminasyon ve Korunma Yolları

Tanımlanamayan kaynaklardan gelen yabancı maddeler bir kültür ortamını kontamine edebilir ve deney sonuçlarını etkileyebilir. Tipik olarak bu kirleticiler arasında virüsler, bakteriler, mantarlar, mikoplazma ve endotoksinler bulunur.

Bununla birlikte sudan, kullanılan plastik veya diğer malzemelerden bulaşabilen başka kirletici maddeler de vardır (Yao ve Asayama, 2017).

Kontaminasyonlardan kurtulmak için; kontamine materyalin atılması, ekipmanın ve reaktiflerin sterilizasyonu veya değiştirilmesi gibi yollar izlenerek hızlı bir şekilde hareket edilmelidir. Sterilizasyon için kullanılan mikro filtrelerden bazı toksik maddelerin ayrıştırıldığı da bilinmektedir (Fenandes ve ark., 2020).

6.1. Aseptik Teknik

Steril kültürlerin kontaminasyonunu önlemek için hijyen ve temizlik kurallarına uymak şarttır. Kök hücreler gibi klinik olarak kullanılacak hücrelerin İyi Üretim Uygulamaları (İÜU) gerekliliklerine uygun bir şekilde üretilmesi gerekmektedir (Aydoğdu ve ark., 2020).

6.2. Kabin Kullanımı

Biyogüvenlik kabini kesinlikle kullanılmalıdır. Kullanımdan önce ve sonra dezenfektan veya %70 etanol ile temizlenmelidir. Düzenli olarak derinlemesine temizliği yapılmalı ve servis kontrolleri düzenli yapılmalıdır. Kabindeki eşyaların sayısı minimumda tutularak, kabin içinde ve dışında fazladan hava akışı oluşturabilecek hareketlerden kaçınarak, varsa laboratuvarındaki pencereler ile havalandırma sistemlerini kapalı tutarak hava yolu kontaminasyonunun önlenmesi sağlanmalıdır (Bouam ve ark., 2021).

6.3. Hücre Kültürü Vasatı

Vasat doğrudan şişeden dökülmemelidir. Steril ambalajlardaki tek kullanımlık serolojik pipetler vasatı aktarmak için kullanılmalıdır. Şişe kapakları uzun süre açık tutulmamalıdır (Adeniye ve Lua 2020). Kapak açık tutulacaksa, kapak aşağı bakacak şekilde çalışma yüzeyine konulmalıdır. Vasatlar kullanılmadan önce kontaminasyon riski olmaması için 0.1-0.2 µm boyutundaki özel filtre sistemlerinden geçirilerek kullanılmalıdır (Fenandes ve ark., 2020).

6.4. Kullanılan ekipman

Kabine yerleştirilen tüm öğeleri temizlemek için uygun dezenfektan veya %70 etanol kullanılmalıdır. Otoklavlama, reaktifleri ve ekipmanı gerektiği gibi sterilize etmek için kullanılabilir (WHO, 2020). Ticari olarak satın alınan ürünlerde sterilizasyon uyarılarına dikkat edilmelidir.

6.5. Hücre hatlarının çalışılması

İdeal olarak, farklı hücre hatları ayrı kabinlerde ve inkübatörlerde çalışılmalıdır. Böyle bir imkân yok ise, çapraz kontaminasyonun önüne geçmek için kabinde bir seferde yalnızca bir hücre hattı çalışılmalı ve diğer hücre hattına geçmeden önce kapsamlı dezenfeksiyon uygulamaları yapılmalıdır (Abatenh ve ark., 2018). Çalışma sırasında herhangi bir dökülme olması durumunda derhal uygun bir dezenfektanla müdahale edilmelidir.

6.6. Çalışanlar

Çalışma süresince eldivenler sık sık değiştirilmelidir (kirlenirse bu zorunludur). Eldiven değişimi yapılmayan sürelerde de %70'lik etanol ile düzenli olarak silinmelidir. Hücre kültürü yapılırken kişisel koruyucu giysiler giyilmeli, çalışmanın öncesinde ve sonrasında eller iyice yıkanmalıdır (Donaldson ve Bishop, 2015).

7. Sonuçlar

Hücre kültürü sistemleri, canlı hayvan testlerine alternatif olarak büyük potansiyele sahiptir. Yetiştirilecek hücre tipine bağlı olarak, vasat gereksinimleri değişir. Hücrelerin doğru bir şekilde büyümesini sağlamak için hücre kültürü sırasında farklı parametreleri ve koşulları sürekli olarak kontrol etmek gerekmektedir. 1907'de Harrison, yetişkin bir kurbağanın lenf bezlerinden elde edilmiş taze lenf sıvısında birkaç hafta boyunca kurbağanın sinir liflerinin belirgin büyümesini başarıyla gerçekleştirdi. Daha sonra da memeli hücrelerinin kontrollü laboratuvar koşullarında yetiştirilmesi sağlandı. Fischer 1948 yılında yaptığı bir çalışmayla, diyaliz edilmiş seruma belirli aminoasitleri ekleyerek, hücrelerin metabolik olarak desteklenebildiği bir vasat oluşturulabileceğini gösterdi.

Bu derlemede, günümüzde birçok alanda kullanılmakta olan hücre kültürü yöntemlerinin tarihsel gelişiminden, hücre

kültürü ortamlarının temel ihtiyaçlarından, yapılacak vasat geliştirme çalışmalarına hücre kültürü alanındaki gelişmelere ek öncülük edecektir. Çalışmamız hücre olarak kültür ortamında meydana kültürü alanında bilgi sahibi olmak isteyen gelebilecek kontaminasyon risklerinden ve araştırmacılara genel bir bakış açısı bu risklerden korunma yollardan kazandıracaktır. bahsedilmiştir. Bu çalışma daha sonra

Kaynaklar

- Abatenh E, Gizaw B, Tsegaye Z (2018). Contamination in a microbiological laboratory. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)* 6(4): 7–13.
- Ackermann T, Tardito S (2019). Cell culture medium formulation and its implications in cancer metabolism. *Trends in Cancer* 5(6): 329–332.
- Adeniyi AA, Lua LHL (2020). Protein expression in the Baculovirus-Insect cell expression system. In: *Gerrard J., Domigan L. (eds) Protein Nanotechnology. Methods in Molecular Biology*, vol 2073, 17-37. Humana, New York, NY.
- Arora M (2021). Cell culture media: A review. *Materials and Methods* 3: 1–29.
- Aydoğdu N, Öztel ON, Karaöz E (2020). Isolation, culture, cryopreservation, and preparation of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a final cellular product under good manufacturing practices-compliant conditions. In: *Turksen K. (eds) Stem Cells and Good Manufacturing Practices. Methods in Molecular Biology* 2286: 73-84 . Humana, New York, NY.
- Bouam A, Vincent JJ, Drancourt M, Raoult D, Levy PY (2020). Preventing contamination of PCR-based multiplex assays including the use of a dedicated biosafety cabinet. *Letters in Applied Microbiology* 72(1): 98–103.
- Bryant KL, Stalneck CA, Zeitouni D, Klomp JE, Peng S, Tikunov AP, Gunda V, Pierobon M, Waters AM, George SD, Tomar G, Papke B, Hobbs GA, Yan L, Hayes TK, Diehl JN, Goode GD, Chaika NV, Wang Y, Der CJ (2019). Combination of ERK and autophagy inhibition as a treatment approach for pancreatic cancer. *Nature Medicine* 25(4): 628–640.
- Carrel A (1912). On the permanent life of tissues outside of the organism. *The Journal of Experimental Medicine* 15(5): 516–528.
- Carrel A, Burrows MT (1911). Cultivation of tissues in vitro and its technique. *The Journal of Experimental Medicine* 13(3): 387–396.
- Chung C, Burdick JA (2008). Engineering cartilage tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60(2): 243–262.
- Combs GF (2012). How to use this book. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381980-2.00032-3>
- Donaldson CD, Bishop KN (2015). Cell culture. *British Journal of Hospital Medicine* 76(1): 2–5.

- Dulbecco R, Freeman G (1959). Plaque production by the polyoma virus. *Virology* 8(3): 396–397.
- Eagle H (1955). Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture. *Science (New York, N.Y.)* 122(3168): 501–514.
- Earle WR, Schilling EL, Stark TH, Straus NP, Brown MF, Shelton E (1943). The mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *Journal of the National Cancer Institute* 4(2): 165–212.
- Fernandes F, Silkina A, Fuentes-Grünewald C, Wood EE, Ndovela WVLS, Oatley-Radcliffe DL, Lovitt RW, Llewellyn CA (2020). Valorising nutrient-rich digestate: Dilution, settlement and membrane filtration processing for optimisation as a waste-based media for microalgal cultivation. *Waste Management* 118: 197–208.
- Fischer A (1948). Amino-acid metabolism of tissue cells in vitro. *Nature* 161(4104): 1008.
- Gey GO (1952). Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Res.* 12: 264–265.
- Ham RG (1963). An improved nutrient solution for diploid Chinese hamster and human cell lines. *Experimental Cell Research* 29(3): 515–526.
- Harrison RG (1907). Observations on the living developing nerve fiber. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 4(1): 140–143.
- Hassan SN, Ahmad F (2020). The relevance of antibiotic supplements in mammalian cell cultures: Towards a paradigm shift. *Gulhane Medical Journal* 62(4): 224–230.
- Henschler R (2018). Cell Culture Media. In: Kasper C., Charwat V., Lavrentieva A. (eds) *Cell Culture Technology. Learning Materials in Biosciences.* Springer, Cham. 49–59.
- Jedrzejczak-Silicka M (2017). History of cell culture. *New Insights into Cell Culture Technology* 1–42.
- Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski Ł, Lamperska K (2018). 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures. *Archives of Medical Science* 14(4): 910–919.
- Krattenmacher F, Heermann T, Calvet A, Krawczyk B, Noll T (2018). Effect of manufacturing temperature and storage duration on stability of chemically defined media measured with LC-MS/MS: Impact of manufacturing and storage on CDM components measured with LC-MS/MS. *Journal of Chemical Technology ve Biotechnology* 94.
- Landecker H (2002). New times for biology: nerve cultures and the advent of cellular life in vitro. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 33: 667–694.
- Lewis MR, Lewis W (1911). The cultivation of tissues from chick embryos in solutions of NaCl, CaCl₂, KCl and NaHCO₃. *The Anatomical Record* 5(6): 277–293.
- Mather J, Sato G (1977). Hormones and growth factors in cell cultures: problems and perspectives. *Cell, Tissue, and Organ Cultures in Neurobiology* 619–630.
- Media DOF, Properties P (2010). Chapter 8: Defined Media and Supplements. 8: 99–114.
- McGillicuddy N, Floris P, Albrecht S, Bones J (2018). Examining the sources of variability in cell culture media used for biopharmaceutical production. *Biotechnology Letters* 40(1): 5–21.

- Michl J, Park KC, Swietach P (2019). Evidence-based guidelines for controlling pH in mammalian live-cell culture systems. *Communications Biology* 2(1): 1–12.
- Nims RW, Harbell JW (2017). Best practices for the use and evaluation of animal serum as a component of cell culture medium. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal* 53(8): 682–690.
- Piletz JE, Drivon J, Eisenga J, Buck W, Yen S, McLin M, Meruvia W, Amaral C, Brue K (2018). Human cells grown with or without substitutes for fetal bovine serum. *Cell Medicine* 10: 1–11.
- Price P (2017). Best practices for media selection for mammalian cells. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal* 53(8): 673–681.
- Ringer S (1882). Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. *The Journal of Physiology* 3(5–6): 380–393.
- Rothblat G (2012). Growth, nutrition, and metabolism of cells in culture V3 (C. 3). Elsevier.
- Ryu AH, Eckalbar WL, Kreimer A, Yosef N, Ahituv N (2017). Use antibiotics in cell culture with caution: Genome-wide identification of antibiotic-induced changes in gene expression and regulation. *Scientific Reports* 7(1): 1–9.
- Salazar A, Keusgen M, Von Hagen J (2016). Amino acids in the cultivation of mammalian cells. *Amino Acids* 48(5): 1161–1171.
- Schnellbaecher A, Binder D, Bellmaine S, Zimmer A (2019). Vitamins in cell culture media: Stability and stabilization strategies. *Biotechnology and Bioengineering* 116(6): 1537–1555.
- Schwartz PB, Ronnekleiv-Kelly SM (2019). Effective cell culture. 157–169.
- Shipman CJ (1969). Evaluation of 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES) as a tissue culture buffer. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 130(1): 305–310.
- Singh S, Kerndt CC, Davis D (2021). Ringer’s Lactate. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. PMID: 29763209.
- States BO (2019). Introduction. *The Rhetoric of Dreams* 1–12.
- Sung YH, Lim SW, Chung JY, Lee GM (2004). Yeast hydrolysate as a low-cost additive to serum-free medium for the production of human thrombopoietin in suspension cultures of Chinese hamster ovary cells. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63(5): 527–536.
- van der Valk J, Brunner D, De Smet K, Fex Svenningsen A, Honegger P, Knudsen LE, Lindl T, Noraberg J, Price A, Scarino ML, Gstraunthaler G (2010). Optimization of chemically defined cell culture media--replacing fetal bovine serum in mammalian in vitro methods. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA* 24(4): 1053–1063.
- Verma A, Verma M, Singh A (2020). Animal tissue culture principles and applications. *Animal Biotechnology* 269–293.
- Vogelaar JPM, Erlichman E (1933). A feeding solution for cultures of human fibroblasts. *Am J Cancer* 18: 28–38.

- Wahrheit J, Nicolae A, Heinzle E (2014). Dynamics of growth and metabolism controlled by glutamine availability in Chinese hamster ovary cells. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98(4): 1771–1783.
- Wang F (2006). Culture of animal cells: A manual of basic technique, fifth edition. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal* 42(5): 169.
- WHO World Health Organization (2020). Decontamination and waste management. Geneva: World Health Organization; 2020 (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Yao T, Asayama Y (2017). Animal-cell culture media: History, characteristics, and current issues. *Reproductive Medicine and Biology* 16(2): 99–117.

Ga katkılı Li_2MnO_3 Katot Malzemesinin İyonik İletkenlik Ölçümleri

Hadi Baveghar¹, Gültekin ÇELİK^{2*}, Serdar DALKILIÇ³

*Sorumlu yazar: gcelik@selcuk.edu.tr

¹ Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0001-6713-2110 / h.baveghar87@gmail.com

² Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0001-8587-322X / gcelik@selcuk.edu.tr

³ Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0002-1132-9309 / serdardalkilic2@outlook.com

Öz: Bu çalışmada Li_2MnO_3 katot malzemesine %1 ve %3 oranlarında Ga katkılanması yapılmıştır. Yapılan küçük oranlardaki katkılanmaların yeni katot malzemesinin kristal yapısına ve iletkenlik özelliklerine etkileri incelenmiştir. Malzemeler bilyalı öğütücü kullanılarak mekanik öğütme yöntemiyle hazırlanmıştır. Numuneler farklı sıcaklıklarda sinterlenip yeniden öğütüldükten sonra pelet haline getirilmiştir. Üretilen toz numunelerin XRD ve SEM görüntüleri incelenmiştir. Hazırlanan peletler gümüş pastayla kaplanmıştır. Kaplanan peletlerin iletkenlikleri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar yapılan Ga katkılarının katot malzemenin iletkenliğini arttırdığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Galyum katkılama, İyonik iletkenlik, Li_2MnO_3

Ionic Conductivity Measurements of Ga-doped Li_2MnO_3 Cathode Material

Abstract: In this study, 1% and 3% Ga doping was applied to the Li_2MnO_3 cathode material. The effects of small amounts of doping on the crystal structure and conductivity properties of the new cathode material were investigated. The materials were prepared by mechanical grinding method using a ball mill. After the samples were baked and re-grinded at different temperatures, they were turned into pellets. XRD and SEM images of the produced powder samples were examined. The prepared samples were coated with silver paste and electrochemical impedance spectroscopy measurements were taken for conductivity measurements. The results obtained showed that the additives increased the conductivity of the cathode material.

Keywords: Gallium-doped, Ionic conductivity, Li_2MnO_3

1. Giriş

Lityum -mangan (Li-Mn) bazlı katot malzemeler 200 mAh/g'den fazla deşarj kapasitesine sahip olmalarından dolayı yeni nesil katot malzemeleri için potansiyel aday olarak gösterilmektedir. Deşarj kapasitesinin bu kadar büyük olması Li_2MnO_3 yapısındaki fazladan oluşan lityum iyonlarından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle fazladan

oluşan Li'un özelliklerini iyileştirmek Li_2MnO_3 'ün temel şarj-deşarj mekanizmasının da daha iyi olacağı anlamına gelmektedir. Li_2MnO_3 'ün elektrokimyasal özellikleriyle ilgili literatürde oldukça fazla çalışma bulunmaktadır (Guerrini ve ark., 2020; Baveghar, 2019; Yin ve ark., 2019; Leifer ve ark., 2018; Yang ve ark., 2016; Ye ve ark.,

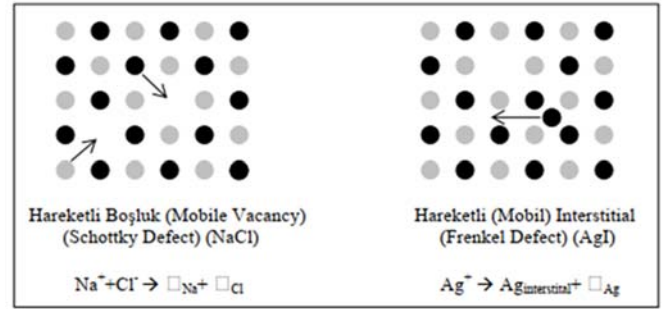
2015; Thackeray, 1991). Bu çalışmalar malzemenin aslında elektrokimyasal olarak aktif olduğunu göstermektedir. Ayrıca şarj-deşarj kapasitelerinin, sentez koşullarına büyük oranda bağlı olduğu bilinmektedir (Nakamura ve ark., 2009). Ulaşılan sonuçların tümü şarj-deşarj sırasında Li_2MnO_3 'ün yapısında olumlu bir değişikliğin olduğunu göstermektedir. Yapısal değişikliklerin arkasındaki itici gücün ne olduğunu bulmak için daha fazla çalışma/ analiz gerekmektedir. Bu çalışmada Li_2MnO_3 katot malzemesine %1 ve %3 oranlarında Ga katkıları yapılarak ana malzemenin iletkenliğinin arttırılabileceği gösterilmiştir.

2. Materyal ve Metot

Örgü yapısında boşluk kusurları normalde iki yolla oluşmaktadır. Birinci yöntem kristalin ısıtılması diğeri ise dışarıdan atom ilavesi ile olmaktadır. Sıcaklığın arttığı durumda iyonların hareketini belirleyen iki kusur mevcuttur. Bunlar Schottky ve Frenkel kusurlarıdır (Şekil 1). Schottky kusurunda katyon ve anyon iyon çifti yerlerini terk etmektedir. Bundan dolayı kristal yapı içerisinde boşluklar oluşmaktadır. Frenkel örgü kusurunda ise bir tek iyon vardır. Bu iyon yapı içinde herhangi bir boşluğa da yerleşmez. Yapı içinde bir kurala bağlı kalmaksızın hareket etmektedir. Katyon Frenkel ve Anyon Frenkel olmak üzere iki

tipi mevcuttur. Katyon Frenkel kusurları daha sık görülmektedir. Çünkü katyonların yarı çapı daha küçüktür. Bu durumda bir yere konumlanma kolaylaşmaktadır (Scrosati ve ark, 2011). Her iki kusurda örgüde boşluk oluşturmakta ve yapı içerisinde var olan iyonlar bu boşluklara atlamaktadır. Bu hareket katı içinde iletkenliğin artışına neden olmaktadır.

Safsızlığın katkılama ile oluştuğu örgü kusurunda, örgü içinde hareketli boşluk kusurları meydana gelmektedir.



Şekil 1. Örgü kusuru tipleri ve yük taşıyıcısının hareketi

2.1 İyonik-iletkenlik

Bir malzemede iletkenlik iki yolla oluşmaktadır. Bunlar ya iyonik iletkenlik ya da elektriksel iletkenliktir. İyonik iletkenlikte özellikle O^{2-} , N^{3-} , Cl^- , B^{2-} , H^+ , Li^+ gibi anyonların veya katyonların hareketleri ile sıklıkla karşılaşılmaktadır (Beran, 2018). Kristal örgüsündeki iyonların yerlerini değiştirmeleri sonucundaki oluşan iletkenlik; iyonik iletkenlik olarak tanımlanmaktadır. Bir örgüdeki atomlar örgü noktalarındaki konumlarını korumak istemektedirler. Ancak kristal kusurları

boyunca bir nevi hareket gözlenir. Burada oluşan hareket zıplama (sıçrama, hopping, jumping) mekanizması sonucu oluşmaktadır. NaCl, MgO yapıları kristal özellik sergilemektedirler. Bu yapılarda termal titreşimler gözlenmesine rağmen atomlar yerlerinden ayrılmak istememektedir. Bu durum iyonik iletkenliği azaltmaktadır. İyonik iletkenlik sergileyen iyonik kristal; katı ya da sıvı haldeki elektrolit malzemelerden oluşmaktadır (Çizelge 1).

Çizelge 1. İletkenlerin sınıflandırılması

İletkenlik Türü	Malzeme	İletkenlik ($\text{ohm}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
İyonik İletkenler	İyonik Kristaller	$<10^{-16}-10^{-2}$
	Katı Elektrolitler	$10^{-1}-10^3$
	Sıvı Elektrolitler	$10^{-1}-10^3$
Elektronik İletkenler	Metaller	10^3-10^7
	Yarıiletkenler	$10^{-3}-10^4$
	Yalıtkanlar	$<10^{-10}$

İyonik iletkenlik sadece iki yolla gözlenebilmektedir. Birincisi; yüksek sıcaklıktaki atomların termal enerjilerinin yüksek olduğu durumda ve ikincisi ise örgü kusur sayılarının azami düzeye çıktığı haldir.

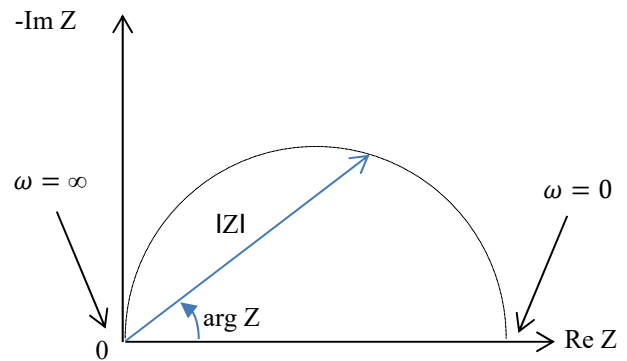
Kristal içinde iyonik iletkenliğin meydana gelebilmesi için; eklenen hareketli iyon miktarı fazla olmalı, hareketli iyonların zıplayabilmesi için çok sayıda boş örgü olmalıdır. Ayrıca iyonun atlama yapabilmesi için aktivasyon enerjisinin düşük olduğu şartlar oluşturulmalıdır (Yılmaz, 2008).

İyonik katılar, içlerinde oluşan elektrik alan vasıtasıyla iyonların

hareketlerine olanak tanıyan örgü kusurlarına sahiptirler. Bu örgü kusurları, yükleri taşımakla görevlidirler. Yani kusurlar ya örgüdeki iyon boşluğu hareketi ya da serbest iyon hareketi şeklinde iletkenliği meydana getirmektedir (Şekil 1).

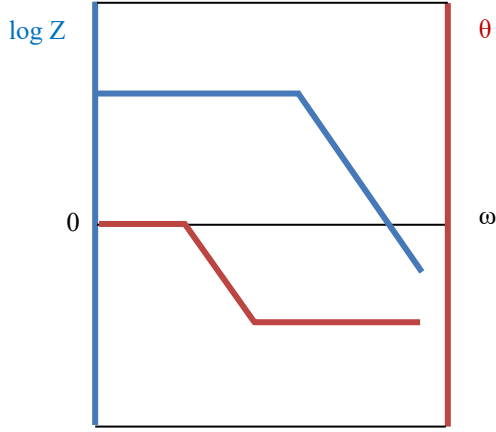
2.2 Empedans spektroskopisi verilerinin elde edilmesi

Empedans spektroskopisi verileri Nyquist grafiği veya Bode grafiği ile yorumlanmaktadır. Empedans, reel ve sanal kısımlardan oluşmaktadır. Örnek bir Nyquist grafiği Şekil 2’de olduğu gibi gösterilebilir. Nyquist grafiğindeki her bir nokta, belirli bir frekansa ait olan bir empedansı göstermektedir.



Şekil 2. Nyquist grafiği

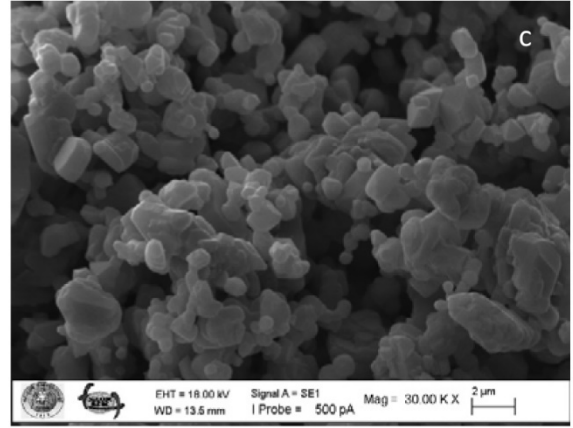
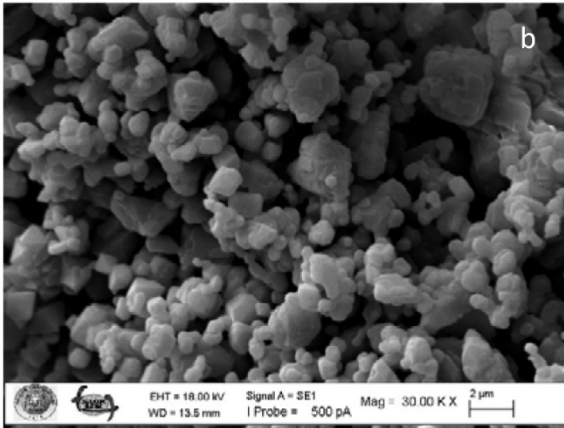
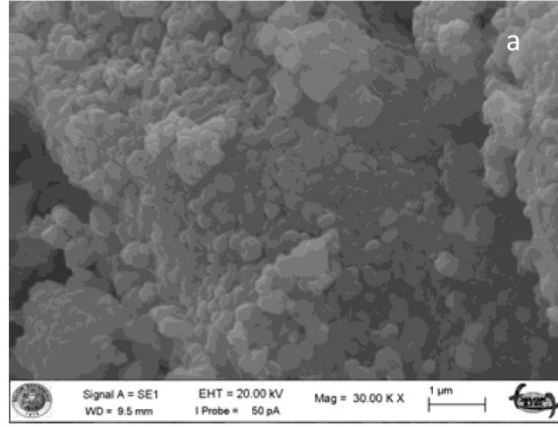
Bode grafiğinde empedans log frekans x ekseninde gösterilmektedir. Ayrıca y ekseninde empedansın hem mutlak değeri hemde faz kayması Şekil 3’te görüldüğü gibi çizilmektedir. Bode grafiği, Nyquist grafiğinin aksine frekans hakkında bilgi sağlamaktadır.



Şekil 3. Bode grafiği

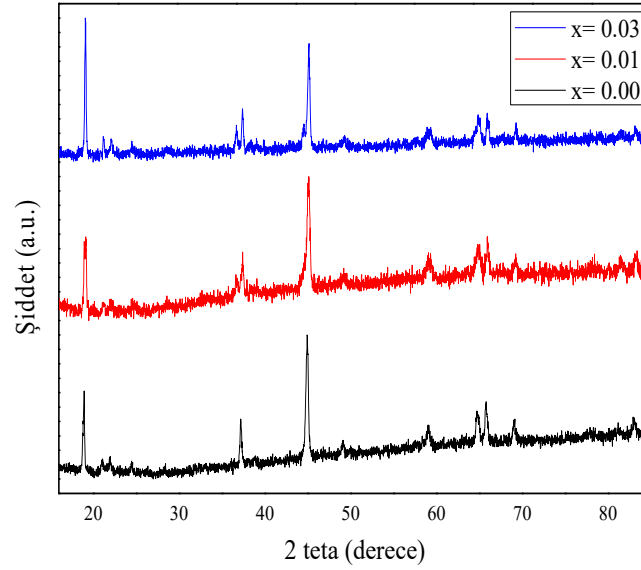
3. Araştırma Sonuçları

Mekanik öğütme yöntemiyle üretilmiş $\text{Li}_{2-3x}\text{Ga}_x\text{MnO}_3$ ($x= 0.00, 0.01$ ve 0.03) numunelerin SEM görüntüleri (Şekil 4) ve XRD grafikleri (Şekil 5) aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. $\text{Li}_{2-3x}\text{Ga}_x\text{MnO}_3$ katot malzemelerine ait SEM görüntüleri; (a) $x= 0.00$, (b) $x= 0.01$ ve (c) $x= 0.03$

Şekil 4a'da Li_2MnO_3 katkısız numuneye ait SEM görüntüsünde malzemenin daha topaklı (bütünsel) yapıya sahip olduğu ve %1 ve %3 katkılı Li_2MnO_3 katot malzemelerin ise daha ayrık yapıya sahip oldukları görülmektedir. Özellikle %3 Ga katkılı numunede taneler daha keskin kenarlı yapıya sahiptirler.



Şekil 5. $\text{Li}_{2-3x}\text{Ga}_x\text{MnO}_3$ katot malzemelerine ait XRD grafiği

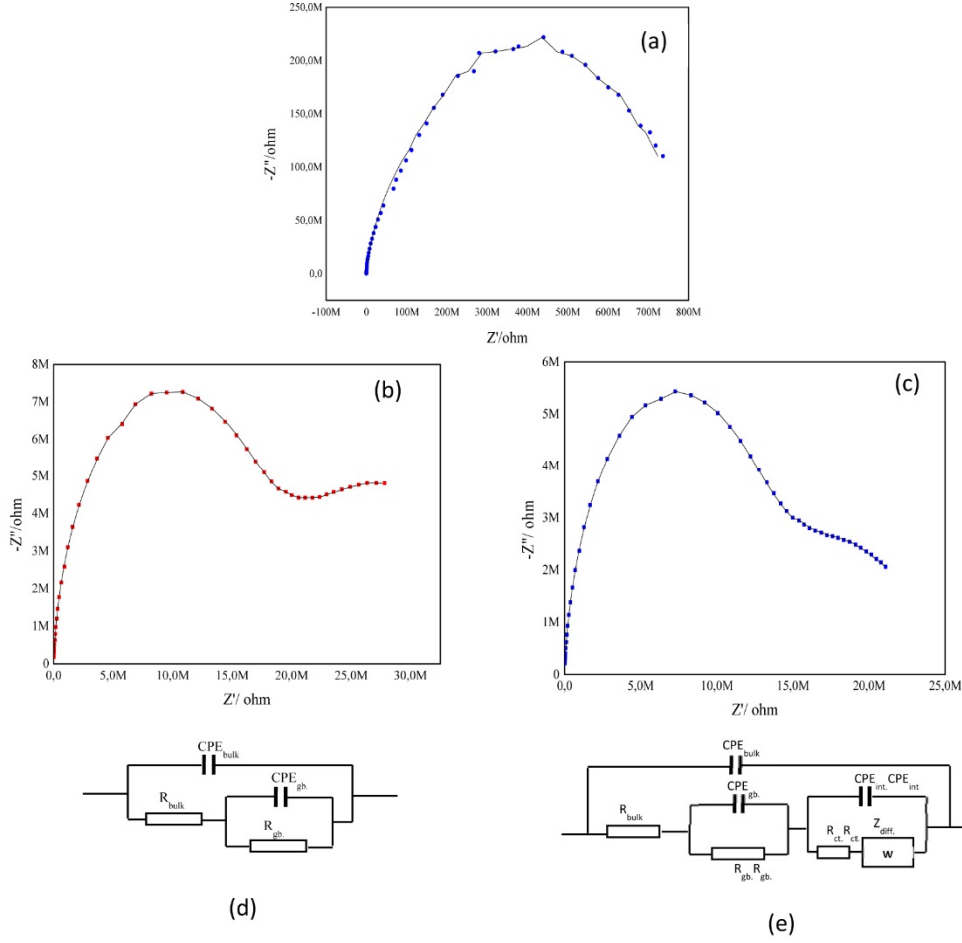
Şekil 5’de görülen XRD sonuçlarına göre katkısız numunenin ($x = 0.00$) kırınım deseni, monoklinik Li_2MnO_3 kristal yapısının tipik yansıma piklerine sahiptir. Diğer taraftan $x = 0.01$ ve $x = 0.03$ Ga katkılı numunelerde çoklu kristal yapı oluşumu görülmektedir. Ayrıca katkılamayla birlikte piklerin şiddetlerinde de değişiklik olmaktadır. Numunelerin kristal yapı özelliklerini detaylı olarak belirleyebilmek için MAUD yazılımı kullanılmıştır. Bu yazılımla değerlendirilen her numunenin analiz sonuçları Çizelge 2’de sunulmuştur.

Çizelge 2. $\text{Li}_{2-3x}\text{Ga}_x\text{MnO}_3$ katot malzemelerin ayrıntılı kristal yapı analiz sonuçları

Katkı	Kristal	α	β	γ	a	b	c	Geometri	Uzay Grubu
$x = 0.00$	Li_2MnO_3	90	99.50	90	4.92	8.53	9.60	Monoklinik	C2/c:b1
$x = 0.01$	Li_2MnO_3	90	99.83	90	4.94	8.56	9.67	Monoklinik	C2/c:b1
	LiGaO_2	90	90	120	2.91	2.91	14.47	Trigonal	R-3mH
$x = 0.03$	Li_2MnO_3	90	99.93	90	4.94	8.55	9.65	Monoklinik	C2/c:b1
	LiGaO_2	90	90	120	2.90	2.90	2.90	Trigonal	R-3mH

Üretilen numunelerin MAUD analizleri neticesinde, katkısız olan numunenin monoklinik geometriye ve C2/c:b1 uzay grubuna sahip olduğu belirlenmiştir. $x = 0.01$ ve 0.03 Ga-katkılı katot malzemelerinin, C2/c:b1 uzay gruplu monoklinik Li_2MnO_3 kristal yapısının yansın R-3mH uzay gruplu trigonal LiGaO_2 kristal yapısına da sahip oldukları bulunmuştur.

$\text{Li}_{2-3x}\text{Ga}_x\text{MnO}_3$ katot malzemelerinin iyonik özelliklerinin AC empedans spektroskopisi ölçümleri sonucunda elde edilen Nyquist grafikleri ve eşdeğer devreleri Şekil 6’da verilmiştir.



Şekil 6. (a) Li_2MnO_3 , (b) $\text{Li}_{1.97}\text{Ga}_{0.01}\text{MnO}_3$, (c) $\text{Li}_{1.91}\text{Ga}_{0.03}\text{MnO}_3$ katot malzemelerinin Nyquist grafikleri, (d) Li_2MnO_3 ve (e) Ga katkılı numunelere ait olan eşdeğer devrelerinin şematik gösterimi

Eşdeğer devrelerdeki R_{bulk} ; tane içindeki direnci, R_{gb} ; taneler arasındaki direnci, R_e ; elektronik direnci ve R_{ct} ; yük transfer direnci ifade etmektedir. CPE_{bulk} ; tane içerisinde meydana gelen yük ayrışımından kaynaklı kapasitansı, CPE_{gb} ; taneler arasında oluşan yük ayrışımından kaynaklanan kapasitansı ve CPE_{int} ; numune ve gümüş kaplama sırasında oluşan kapasitansı ifade etmektedir. Difüzyon, Warburg empedans olarak bilinmektedir. χ^2 standart sapmanın karesidir. Empedans veri analizinin fit sonuçları, eşdeğer devreler kullanılarak hesaplanmış ve Çizelge 3’de gösterilmiştir.

Çizelge 3. $\text{Li}_{2-3x}\text{Ga}_x\text{MnO}_3$ katot partikülleri için empedans verilerinin fit sonuçları

Numune	$R_{\text{bulk}} (\Omega)$	$\text{CPE}_{\text{bulk}} (\text{Ss}^n)$	$R_{\text{gb}} (\Omega)$	$\text{CPE}_{\text{gb}} (\text{Ss}^n)$	$\text{CPE}_{\text{int}} (\text{Ss}^n)$	Warburg	$R_{\text{ct}} (\Omega)$	χ^2
Li_2MnO_3	3.52×10^7	1.97×10^{-11}	7.83×10^8	3.19×10^{-10}	-	-	-	1.65×10^{-2}
%1 Ga	6.27×10^6	1.45×10^{-11}	1.09×10^7	1.18×10^{-8}	2.06×10^{-10}	2.53×10^{-7}	4.97×10^6	2.64×10^{-5}
%3 Ga	1.14×10^7	2.09×10^{-11}	6.45×10^6	2.46×10^{-10}	6.15×10^{-9}	7.36×10^{-8}	1.19×10^7	3.05×10^{-5}

Ga-LMO malzemelerinin toplam iyonik iletkenlikleri Çizelge 4'te gösterilmiştir. İletkenlikler Eşitlik 1 de kütle ve tane sınırı dirençlerinin toplamları kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\sigma = (1/R)(l/a) \quad (1)$$

Burada l peletin kalınlığı ve a elektrotun alanıdır.

Çizelge 4. Li_{2-3x}Ga_xMnO₃ katot partiküllerinin iyonik iletkenlikleri

Numune	İyonik iletkenlik σ_i (S/cm)	Sıcaklık T (°C)
Li ₂ MnO ₃	1.4×10^{-10}	Oda sıc.
x= 0.01	7.85×10^{-7}	Oda sıc.
x= 0.03	7.03×10^{-7}	Oda sıc.

Scherrer denklemi ile elde edilen sonuçlara göre %1 ve %3 Ga katkılı numuneler yakın iyonik iletkenliğe sahip olup ve katkısız Li₂MnO₃ katot malzemesinden yaklaşık 10³ kat daha yüksek iletkenlik göstermektedir. Daha önce Li₂MnO₃ katot malzemesine x= 0.05,0.10 ve 0.15 oranlı Ga katkılı malzemeler için ölçümler Baveghar tarafından yapılmıştır (Baveghar, 2019). Baveghar'ın sonuçları Çizelge 5 te verilmiştir.

Çizelge 5. Li_{2-x}Ga_xMnO₃ katot partiküllerinin iyonik iletkenlikleri (Baveghar 2019)

Numune	İyonik iletkenlik σ_i (S/cm)	Sıcaklık T (°C)
Li ₂ MnO ₃	1.4×10^{-10}	Oda sıc.
x= 0.05	5.16×10^{-8}	Oda sıc.
x= 0.10	1.95×10^{-9}	Oda sıc.
x= 0.15	8.84×10^{-9}	Oda sıc.

4. Tartışma

Malzemelerin SEM görüntüleri incelendiğinde katkısız Li₂MnO₃ numune topaklı bir yapıya sahip olurken katkılı Li₂MnO₃ numunelerin daha ayırık bir yapıya sahip oldukları görülmektedir. Saf ve katkılı numunelerin XRD grafiklerine bakıldığında LiGaO₂ kristal yapıya ait piklerin şiddetleri katkı miktarı ile birlikte artmaktadır. Ga katkılı Li₂MnO₃ numuneler için yapılan empedans spektroskopisi analizi neticesinde, %1 ve 3 olarak yapılan katkılama ile katkısız malzemenin değeri karşılaştırıldığında, yeni katot malzemelerin iyonik iletkenliklerinin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. SEM, XRD ve EIS analizleri sonucunda %1 Ga katkılı numunenin daha ayırık bir morfolojiye sahip olduğu ve LiGaO₂ kristal yapıya ait olan piklerin şiddetleri düşük olması nedeniyle daha yüksek iyonik iletkenliğe sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca Li₂MnO₃ katot malzemesinin daha önce Baveghar tarafından yapılan %5-10-15 oranlarındaki katkılama miktarından daha yüksek iletkenlik değerleri elde edilmiştir. Bu da Ga katkılama miktarının daha düşük olmasından ve ayrıca Ga katkılı numuneye ait olan yapının genel kimyasal formülünde Li ve Ga atomlarının denkleşmesinden kaynaklanmaktadır.

Kaynaklar

- Baveghar H (2019). Katkılı Li_2MnO_3 katot nano malzemelerin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya*, 67–68.
- Beran L (2018). Strong growth to drive lithium-ion battery market, rechargeable battery special report. <https://omdia.tech.informa.com/OM004697/Lithium-ion-batteries-and-distributed-compute-drive-UPS-market-momentum> (Erişim tarihi: 17.5.2021)
- Guerrini N, Jin L, Lozano J, Luo K, Sobkowiak A, Tsuruta K, Massel F, Duda L, Roberts M, Bruce P (2020). Charging mechanism of Li_2MnO_3 . *Chemistry of Materials* 32: 3733–3740.
- Leifer N, Matlahov I, Erickson E, Sclar H, Schipper F, Shin J, Erk C, Chesneau F, Lampert J, Markovsky B, Aurbach D, Goobes G (2018). Ammonia treatment of $0.35\text{Li}_2\text{MnO}_3 \cdot 0.65\text{LiNi}_{0.35}\text{Mn}_{0.45}\text{Co}_{0.20}\text{O}_2$ material: insights from solid-state nmr analysis. *The Journal of Physical Chemistry* 122: 3773–3779.
- Nakamura H, Park G, Lee Y, Yoshio M (2009). The important role of additives for improved lithium ion battery safety. *Journal of Power Sources* 189: 602–606.
- Scrosati B, Hassoun J, Sun YK (2011). Lithium-ion batteries. A look into the future. *Energy & Environmental Science* 4: 3287–3295.
- Thackeray MM (1999). Spinel electrodes for lithium batteries. *Journal of American Ceramic Society* 82: 3347–3354.
- Yang Y, Xia Y (2016). Suppressing the phase transition of the layered Ni-rich oxide cathode during high-voltage cycling by introducing low-content Li_2MnO_3 . *American Chemical Society* 1297–1308.
- Ye D, Zeng G, Nogita K, Ozawa K, Hankel M, Searles D, Wang L (2015). Understanding the origin of Li_2MnO_3 activation in Li-rich cathode materials for lithium-ion batteries. *Advanced Material* 25: 7488–7496.
- Yılmaz, S (2008). Dy_2O_3 , Eu_2O_3 , Sm_2O_3 Katkılanmış B- Bi_2O_3 tipi katı elektrolitlerin sentezlenmesi, karakterizasyonları ve katı hal oksijen iyonik iletkenliklerinin araştırılması. Doktora Tezi. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*. 22–29.
- Yin Z, Peng X, Li J, Shen C, Deng Y, Wu ZT, Zhang Q, Mo Y, Wang K, Huang L, Zheng H, Sun S (2019). Revealing of the activation pathway and cathode electrolyte interphase evolution of Li-rich $0.5\text{Li}_2\text{MnO}_3 \cdot 0.5\text{LiNi}_{0.3}\text{Co}_{0.3}\text{Mn}_{0.4}\text{O}_2$ cathode by in situ electrochemical quartz crystal microbalance. *American Chemical Society* 16214–16222.



Numerical Comparison of Anatomical Features of Lamiaceae Taxa Named After Spil Mountain

Peri Ilgar kızı MEMMEDOVA¹, Canan ÖZDEMİR^{2*}

*Corresponding Author: cozdemir13@gmail.com

¹ Baku State University, Gazak Branch, Department of Biology, Gazak, AZERBAIJAN
Orcid No: 0000-0003-3659-0359 / peri.mamedova93@mail.ru

^{2*} Celal Bayar University, Faculty of Art and Science, Department of Biology, Manisa, TURKEY
Orcid No: 0000-0003-1316-4146 / cozdemir13@gmail.com

Abstract: In this study, the anatomical features of some taxa (*Origanum sipyleum*, *Satureja parnassica* subsp. *sipylea*, *Sideritis sipylea*, *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*) belonging to the Lamiaceae distributed on the Spil Mountain of Turkey were compared statistically. Lamiaceae family to which the investigated taxa belong are of high importance for their antioxidant potential, multiple pharmaceutical uses in folk medicine. The some anatomical features of the stem were selected and measurements were taken. The data obtained from the anatomical features were evaluated statistically. By this study it has been determined that cortex length and diameter of pith are the best character pairs which represent the variations in them. Thus, the cortex length and diameter of pith can be viewed as a taxonomic character for classification of species. The results showed that investigated taxa also could be distinguished from each other not only by their morphological features but numerical anatomical characters as well.

Keywords: Anatomy, Lamiaceae, Numerical analysis, Statistical analysis

Adını Spil Dağı'ndan Alan Lamiaceae Taksonlarının Anatomik Özelliklerinin Sayısal Olarak Karşılaştırılması

Öz: Bu çalışmada, Türkiye'nin Spil Dağı'nda yayılış gösteren Lamiaceae'ye ait bazı taksonların (*Origanum sipyleum*, *Satureja parnassica* subsp. *sipylea*, *Sideritis sipylea*, *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*) anatomik özellikleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Çalışmada incelenen taksonların da ait olduğu Lamiaceae familyası, antioksidan potansiyelleri ve halk hekimliğinde çoklu farmasötik kullanımları nedeniyle büyük önem taşımaktadır. İncelenen taksonların bazı anatomik gövde özellikleri seçilerek bunlardan anatomik ölçümler alındı. Anatomik özelliklerden elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu çalışma ile korteks uzunluğu ve öz çapının, varyasyonları temsil eden en iyi karakter çiftleri olduğu belirlenmiştir. Böylece, korteks uzunluğu ve öz çapı, türlerin sınıflandırılması için taksonomik karakterler olarak görülebilir. Elde edilen sonuçlar, incelenen taksonların sadece morfolojik özellikleriyle değil, sayısal anatomik karakterleri ile de birbirlerinden ayırt edilebildiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Lamiaceae, Sayısal analiz, İstatistiksel analiz

1. Introduction

Spil Mountain which is the natural distribution area of the studied taxa, is located west of Turkey starts from the 60 m level of the Gediz River plain and reaches a height of 1517 meters. The investigated taxa take their names from the mountain.

Lamiaceae family to which the taxa belong are of high importance for their antioxidant potential, multiple pharmaceutical uses in folk medicine, and commercial essential oils as well as their wide cosmetic and culinary applications. More specifically, the genera *Origanum* and *Satureja* have found a wide

variety of pharmaceutical and food applications (Formisano et al., 2014). The genus *Origanum*, as an important ethnomedicinal plant, is found in the Mediterranean region, North Africa, and Eurasia (Loizzo et al., 2009). The genus *Satureja* including about 200 species mainly grows in West Asia, Middle East, Europe, North Africa, Mediterranean region, and South America. *Sideritis* L. comprises more than 150 annual and perennial species and subspecies worldwide (Gonzalez et al., 2011) and most of them are to be found as wild-growing plants in countries around the Mediterranean Basin and the Caspian Sea (Barber et al., 2002); many among them are confined to small geographical areas being exclusive endemics either to single islands (e.g. Crete, Greece; Canary islands, Spain), single countries (e.g. Spain, Morocco, Italy, Greece, Turkey etc.) or a couple of adjacent countries e.g. Balkans or Greece, and Turkey (Charalampia-Kloukina et al., 2020). The genus *Thymus* L. consists of about 215 species of herbaceous perennials and subshrubs. The Mediterranean region can be described as the center of the genus (Vouillamoz and Christ, 2020).

Most previous studies have revealed the chemical composition and antioxidant capacity of some of the species in the Lamiaceae family including *Origanum* (Loizzo et al., 2009), *Satureja* (Kemertelidze et al., 2012; Ghasemi et al., 2014; Moradi

and Sadeghi, 2017). *Thymus* (Tohidi et al., 2017; Bahman et al., 2005). Anatomical studies of Lamiaceae have been carried out by many authors (Atasagun et al., 2015; Çelep et al., 2011); however, anatomical studies carried out on the investigated taxa were limited with several authors (Ozer et al., 2017). We have not found any studies on statistical comparison of numerical anatomical features, such as this one we have just done.

In this study, the stem anatomical properties of *Origanum sipyleum* L. *Satureja parnassica* subsp. *sipylea*, *Sideritis sipylea*, *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* species belonging to Lamiaceae, which are localized Spil Mountain in Turkey, were investigated. The anatomical variations in the taxa have been investigated by means of numerical methods. Results were supported by tables and graphs. The purpose was to determine statistically the cloneness of the taxa with the help of numerical anatomic characters.

2. Material and Method

The plant samples were collected from Spil Mountain in the western Anatolian region of Turkey where they grow naturally (Figure 1A-D). They were collected in 2019 during their flowering period, from March to August. The research was primarily completed in three stages: field study, where plants were taken, laboratory studies where

anatomical studies were performed, and statistical studies in which the obtained results were evaluated mathematically. The plant samples were fixed in 70% ethyl alcohol (C₂H₅OH). For microscopic observations, sections were taken from the stem parts of the plant and were stained using safranin and fastgreen dyes (Bozdağ et al., 2016). Preparations prepared from these sections were examined using Leica DM3000 motorized microscope lenses. Some stem anatomical characters (epidermis, cortex diameter, tracheal diameter, pith diameter) were selected for

the numerical analysis. Measurements were made in these structures. Minimum, maximum, average and standart error values were determined and these values were turned into tables. Characters were coded as 1- 6 and the taxa were coded as A-D (Table 1). Significance of the differences between the taxa and characters were evaluated by Analysis of variance and Pearson's correlation. Statistical analysis were performed using the MINITAB software package.



Figure 1. Natural photos *Origanum sipyleum* (A), *Satureja parnassica* subsp. *sipylea* (B), *Sideritis sipylea* (C), *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* (D)

Table 1. Codes of the examined taxa and anatomical features.

The examined taxa	Code	Anatomical features	Code
<i>Origanum sipyleum</i>	A	Epidermis length	1
<i>Satureja parnassica</i> subsp. <i>sipylea</i>	B	Epidermis width	2
<i>Sideritis sipylea</i>	C	Cortex length (μm)	3
<i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> . var. <i>sipyleus</i>	D	Cortex width (μm)	4
		Diameter of tracheal elements (μm)	5
		Diameter of pith	6

3. Results and Discussion

3.1. Anatomical findings:

Origanum sipyleum: The stem cross-section is in the form of a protruding circle or it has squared similar to round shape. Epidermis cells are fragmented, oval and rectangular in shape. Below the epidermis are large-diameter parenchyma cells with thickened walls as collenchyma tissue. The phloem region is prominent and located just above the xylem. Xylem elements take up a very large area. There is a large pith cavity in the center of the stem and smooth circular pithy parenchyma cells cover this cavity (Figure 2A-B).

Satureja parnassica subsp. *sipylea*: Cross-section of the stem is 4-cornered. Epidermis cells of stem are oval, rectangular or square shaped. It is composed of a single cells, and covered with a thick and undulated cuticle. There are 5-8 rows of cortex parenchyma. Between the cortex layer, there is a cell layer with thickened walls consisting of a single row of rings. The collenchyma tissue, located on the corner stem. The cambium is not distinguishable. The region of pith occupies

a large area in the cross-section. (Figure 2C-D).

Sideritis sipylea: Cross-section of the stem is 4-cornered. Collenchyma is seen in corners as wide and shallow. Epidermis cells are oval, rectangular or nearly square in shape. There are many non-glandular and glandular hairs on the epidermis. At the corners of the stem, there are cells collenchyma and under the epidermis, there are cells with chlorophyll consisting of 1-8 cell lines. Below these cells, there are the cortex parenchyma of 1-3 rows rectangular and oval in shape. The phloem area is clearly and there are clusters of scleranchyma cell on it. 2-3 rows of cambium are found at the stem. The region of pith is wide in the center and consists of circular parenchyma cells (Figure 2E-F).

Thymus sipyleus subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*: Cross-section of the stem has squared shape. Epidermis cells are oval, rectangular or nearly square in shape. There is a thin cuticle layer on the epidermis. There are many non-glandular and glandular hairs on the epidermis. In the corners of the stem, there is a cluster of collenchyma cells.

Under these cells, there are cells of cortex parenchyma of 1-5 rows are rectangular and oval in shape. The phloem region is not evident. There is a scleranchyma ring on elements of vascular. The xylem elements

are very distinct and the trachea are sometimes irregularly arranged. The pith region in the center of the stem is wide and consists of circular parenchyma cells (Figure 2G-H).

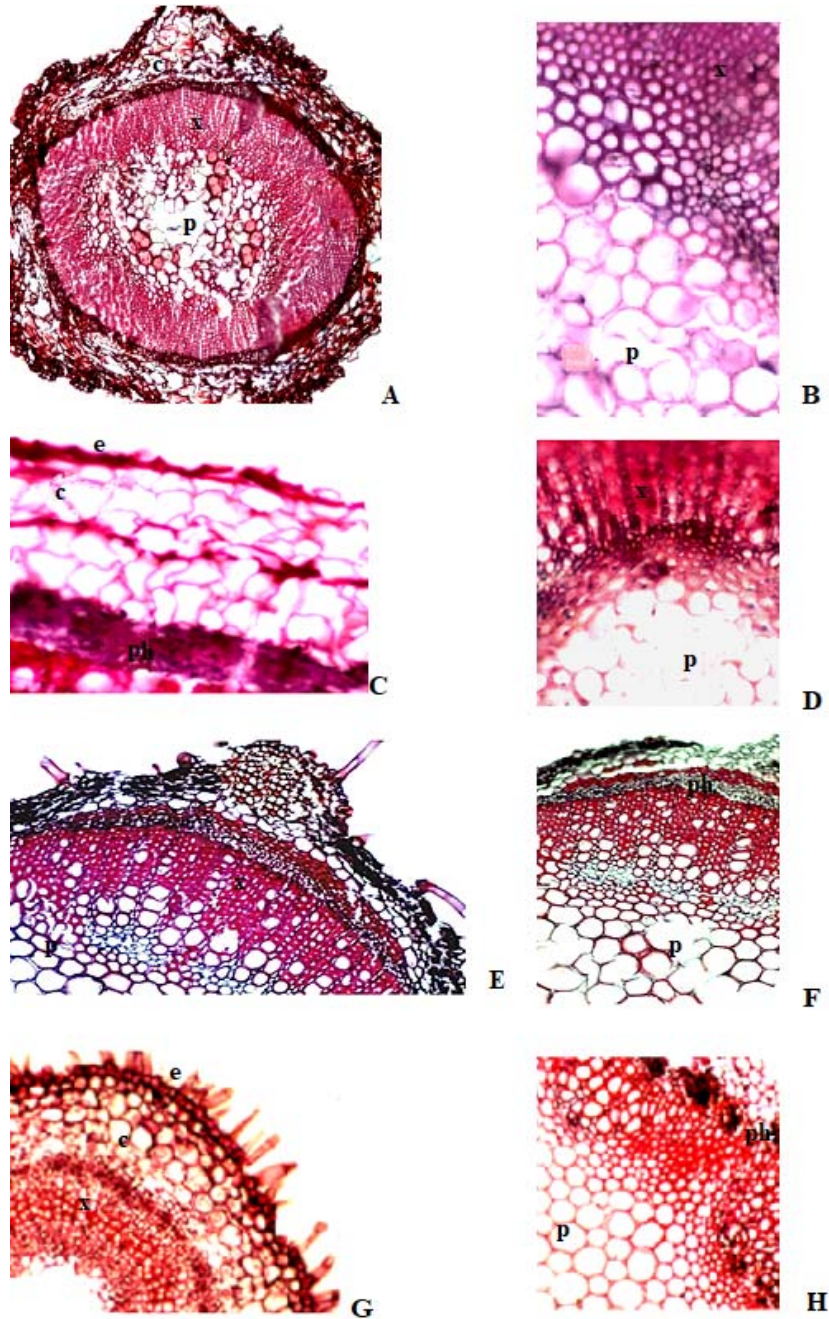


Figure 2. Stem cross-section of taxa

A-B: *Origanum sipyle* C-D: *Satureja parnassica* subsp. *sipylea* E-F: *Sideritis sipylea* G-H: *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* (Microscope objective numbers: A:x4; B, D, G: x10; C, E, F, H:x20) e: epidermis cells, x:xilem, c:cortex layer; p:pith, ph:phloem

3.2. Results of statistical analysis:

The anatomical measurements of the investigated taxa were shown in Table 2. Significance of the differences between the investigated taxa and anatomical characters was evaluated by analysis of variance and Pearson correlation. While the results between the taxa examined according to the Pearson correlation method are given in Table 3, the results obtained according to the variance analysis method are given in Table 4. According to both methods of statistical analysis, there are the statistical differences among (*O. sipyleum*-*S. parnassica* subsp. *sipylea*) and (*O. sipyleum*-*S. sipylea*) in the values 0.005; 0.005; 0.001 and 0.002 respectively at level of 0,01** and 0.05* (Table 3-4). According to both statistical methods, it was determined that the taxon encoded with D *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* was not statistically significant with the other taxa studied. The fact that the taxon is not close to the other taxa systematically examined shows that it confirms the statistical results. As observed in laboratory studies also, *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* that encoded with D differs from other investigated taxa due to the different anatomical features such as the unclear phloem region. Thus, this result supports the statistical results. When the anatomical features were evaluated with both statistical analysis methods, there were differences between the characters (cortex

length-cortex width), (cortex length-diameter of pith) and (cortex width-diameter of pith) in the values 0.001; 0.018; and 0.017 respectively at level of 0,01** and 0.05* (Table 4-5). On the other hand, according to method of Pearson correlation, there are also the differences between epidermis length and diameter of tracheal in the value 0.029 at level of 0.05* (Table 5). According to result of variance analysis, significant differences also were found between (cortex length-diameter of tracheal) and (cortex width-diameter of tracheal) in the values 0.047 and 0.050 respectively at level of 0.05* (Table 6).

The examined taxa carry the characteristics of the family they belong to (Lamiaceae). The researchers emphasized that the typical feature of the family is a four-cornered body and a well-developed collenchyma tissue at the corners of the body as a support tissue (Baran and Özdemir, 2009). Similar features were also seen in the anatomical structures of the studied taxa. While a collenchyma layer is observed at the corners all of the investigated taxa stem, while this layer shows a different distribution on the body in taxa.

However, any extraxilar sclerenchymatic tissue is not seen in stem the studied taxa except to *Sideritis sipylea*, as not seen in *L. lycium* and in *L. moschatum* var. *rhodium*, either (Baran and Özdemir,

2009; 2011). Many genera of Lamiaceae, even annual taxa, usually bear extraxilar sclerenchymatic tissues in their stems (Dinç et al., 2008).

By the analysis of the investigated taxa from 6 stem anatomy related characters, it has been determined that cortex length and diameter of pith are the best character pairs which represent the variations in them. Thus, the cortex length and diameter of pith can be viewed as a taxonomic character for classification of species.

In this study, four Lamiaceae taxa that spread in Spil Mountain compared statistically regarding anatomical characters. The anatomical variations in the taxa have been investigated by means of numerical methods. Similar statistical study has been carried out on some *Salvia* L. belong to family Lamiaceae by some researchers

(Özdemir et al., 2016). On the other hand, similar to the results of our study, statistically significant results were obtained in studies on numerical anatomical features of plants belonging to different families (Özdemir, 2018). We aimed to find statistical and anatomical differences in addition to morphological characters to distinguish these taxa. The results showed that investigated taxa also could be distinguished from each other not only by their morphological features but numerical anatomical characters as well. By the analysis of the investigated taxa from some anatomy related characters, it has been also found that the results from numerical analysis of anatomy characters can provide additional evidences, which correspond to the anatomy for the recognition of the taxa.

Table 2. Measurement results of some stem anatomical structures of examined the taxa.

	<i>Origanum sipyleum</i>		<i>Satureja parnassica</i> subsp. <i>sipylea</i>	
	Min-Max	Mean±SD	Min-Max	Mean±SD
Epidermis width (µm)	05.29-10.58	07.13±02.41	10.70-14.00	12.35±06.20
Epidermis length (µm)	10.25-26.45	18.50±07.90	15.24-25.45	15.25±08.20
Cortexwidth (µm)	06.25-12.55	09.12±05.06	10.24-15.20	12.56±07.88
Cortex length (µm)	10.10-15.87	12.56±07.88	03.54-35.00	19.50±09.60
Diameter of tracheal elements (µm)	11.14-37.00	24.12±09.82	11.40- 32.25	21.35±09.45
Diameter of pith (µm)	26.45-84.64	55.56±17.80	10.50-52.90	31.5±12.80
	<i>Sideritis sipylea</i>		<i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> . var. <i>sipyleus</i>	
	Min-Max	Mean±SD	Min-Max	Mean±SD
Epidermis width (µm)	12.70-13.70	12.13±06.21	10.59-10.70	10.03±08.40
Epidermis length (µm)	16.70-18.70	17.50±07.80	15.37-37.80	27.10±11.40
Cortex width (µm)	10.24-15.29	12.56±07.48	11.53-26.47	17.05±08.06
Cortex length (µm)	15.70-23.80	19.50±08.18	15.60-43.70	28.05±10.40
Diameter of tracheal elements (µm)	10.40- 42.35	26.38±11.45	05.21-21.16	12.10-04.82
Diameter of pith (µm)	15.80-63.48	39.5±12.88	10.50-15.87	12.50±08.60

Min: Minimum, Max: Maksimum, SD: Standard Deviation

Table 3. Pearson correlation based on the investigated taxa.

	A	B	C
B	0.940		
	0.005*		
C	0.986	0.972	
	0.001**	0.001**	
D	0.142	0.235	0.200
	0.789	0.654	0.704

Significant at the level of $P < 0.05$. ** Significant at the level of 0.01. Probability: P value; Abbreviations: A-D: Codes of investigated taxa, A: *Origanum sipyleum*; B: *Satureja parnassica* subsp. *sipylea*; C: *Sideritis sipylea*; D: *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus*. var. *sipyleus*

Table 4. Correlation between taxon (Analysis of Variance).

Source	MS	F-value	Probability	Significance
A-B	242.9	30.36	0.005	**
A-C	135.9	81.77	0.018	**
A-D	5.520	0.080	0.761	NS
B-C	357.5	27.00	0.002	**
B-D	90.03	43.40	0.0543	NS
C-D	21.40	17.30	0.704	NS

MS: Mean Square; * $P < .05$; ** $P < .01$; A-D: Codes of taxon; NS: Not Significant; Probability: P value A: *Origanum sipyleum*; B: *Satureja parnassica* subsp. *sipylea*; C: *Sideritis sipylea*; D: *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus*. var. *sipyleus*

Table 5. Pearson correlation based on anatomical characters.

	1	2	3	4	5
2	0.296				
	0.704				
3	0.518	0.637			
	0.482	0.363			
4	0.477	0.671	0.999		
	0.523	0.329	0.001**		
5	0.029*	0.802	0.792	0.815	
	0.971	0.198	0.208	0.185	
6	0.468	0.618	0.982	0.983	0.863
	0.532	0.382	0.018*	0.017*	0.137

Significant at the level of $P < 0.05$. ** Significant at the level of 0.01; Probability: P value Abbreviations: A-D: Codes of anatomical features

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1: Epidermis length | 4: Cortex width (μm) |
| 2: Epidermis width | 5: Diameter of tracheal (μm) |
| 3: Cortex length (μm) | 6: Diameter of pith |

Table 6. Correlation between anatomical features (Analysis of Variance)

Source	MS	F-value	Probability	Significance
1-2	1.48	0.19	0.704	NS
1-3	4.51	0.71	0.485	NS
1-4	3.81	0.59	0.525	NS
1-5	0.12	0.01	0.910	NS
1-6	3.60	0.52	0.561	NS
2-3	31.1	1.37	0.368	NS
2-4	35.6	1.62	0.321	NS
2-5	50.0	3.64	0.198	NS
2-6	30.0	1.16	0.382	NS
3-4	31.5	90.0	0.001	**
3-5	37.8	28.1	0.047	*
3-6	30.6	53.1	0.018	*
4-5	74.5	74.3	0.050	*
4-6	90.2	57.0	0.017	*
5-6	83.13	5.24	0.137	NS

MS: Mean Square; *P<.05; **P<.01;

1-6: Codes of anatomical features; NS: Not Significant.

- | | |
|-----------------------|------------------------------|
| 1: Epidermis length | 4: Cortex width (µm) |
| 2: Epidermis width | 5: Diameter of tracheal (µm) |
| 3: Cortex length (µm) | 6: Diameter of pith |

As a result, we believe that the study provides a new comparing opportunity for future researchers on the related subjects.

References

- Atasagun B, Aksoy A, Martin E (2015). Contribution to the systematic knowledge of *Lamium multifidum* and *L. orientale* (Lamiaceae). *Phytotaxa* 203(2): 147–158.
- Bahman N, Faraz M, Reza D (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry* 90: 609–611.
- Baran P, C Özdemir (2009). The morphological and anatomical properties of *Lamium lycium* (Lamiaceae), endemic to Turkey. *Nord. J. Bot.* 27: 1–9.
- Baran P, Özdemir C (2011). Morphological, anatomical and cytological investigation on endemic *Lamium moschatum* var. *rhodium*. *Biologia* 66: 439–447.
- Barber JC, Francisco-Ortega J, Santos-Guerra A, Turner KG, Jansen RK (2002). Origin of Macaronesian *Sideritis* L. (Lamioideae: lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets. *Mol Phylogene Evol* 23: 293–306.
- Bozdağ B, O Kocabas, Akyol Y, C Özdemir (2016). New staining method for hand-cut in plant anatomy studies. *Marmara Pharmaceutical Journal* 20: 184–190.
- Celep F, Kahraman A, Atalay Z, Doğan M (2011). Morphology, anatomy and trichome properties of *Lamium truncatum* Boiss. (Lamiaceae) and their systematic implications. *Australian Journal of Crop Science* 5(2): 147–153.
- Charalampia- Kloukina A, Ekaterina- Michael A Tomou A, Nikos- Krigas B, Virginia S, Panagiotis M, Eleni M, Helen S (2020). Non-polar secondary metabolites and essential oil of ex situ propagated and cultivated *Sideritis syriaca* L. subsp. *syriaca* (Lamiaceae) with consolidated identity (DNA Barcoding): towards a potential new

- industrial crop. *Industrial Crops & Products* 158: 112957.
- Dinç M, A Duran, M Pınar, M Öztürk (2008). Anatomy, palynology and nutlet micromorphology of Turkish endemic *Teucrium sandrasicum* (Lamiaceae). *Biologia* 63(5): 637–641.
- Formisano C, Oliviero F, Rigano D Saab, A.M, Senator F (2014). Chemical composition of essential oils and in vitro antioxidant properties of extracts and essential oils of *Calamintha organifolia* and *Micromeria myrtifolia*, two Lamiaceae from the Lebanon flora. *Ind Crops Prod* 62: 405–411.
- Ghasemi PA, Stahpoosh A, Setayesh M, Craker L (2014). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of some medicinal and aromatic plants used as herbal teas and condiments in Iran. *J Med Food* 17: 1151–1157.
- Gonzalez E, Carretero M, Gomez-Serranillos MP (2011). *Sideritis* spp. use, chemical composition and pharmacological activities *J Ethnopharmacol* 135: 209–225.
- Kemertelidze E, Sagareishvili T, Syrov V, Khushbaktova Z Tsutskiridz L, Kurashvili R (2012). Saturin-effective vegetative remedy in treatment of type 2 diabetes mellitus. *Georgian Med News* 203: 47–52.
- Loizzo MR, Menichini F, Conforti F, Tundis R, Bonesi M, Saab A, Statti GA, Cindio B, Houghton PJ, Menichini F, Frega NG (2009). Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chem* 117: 174.
- Moradi S, Sadeghi E (2017). Study of the antimicrobial effects of essential oil of *Satureja edmondi* and nisin on *Staphylococcus aureus* in commercial soup. *Journal of Food Processing and Preservation* 41: 4–7.
- Özdemir A, Özdemir AY, Yetişen K (2016). Statistical comparative petiol anatomy of *Salvia* sp. *Planta Daninha* 34: 465–474.
- Özdemir A (2018). Geometric model definition of annular type tracheal elements of chard and numerical comparison. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University* 35: (3): 227–230.
- Ozer Z, Carikci S, Kilic T, Goren AC (2017). Metabolic profile and biological activity of *Sideritis brevibracteata* P. H. Davis endemic to Turkey. *International Journal of Food Properties* 20: 2994–3005.
- Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chem* 220: 153–161.
- Vouillamoz JF, Christ B (2020). *Thymus vulgaris* L.: Thyme. In: Novak J., Blüthner WD. (eds) Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants. *Handbook of Plant Breeding*, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38792-1_18



Evaluation of the Pumpkin Seed Membrane as a Nutrient in the Fruit Fly Model, Fed With High Fat Diet

Eda GÜNEŞ^{1*}, Şerife BİÇER BAYRAM²

*Corresponding Author: egunes@erbakan.edu.tr

^{1*} Necmettin Erbakan University, Faculty of Tourism, Department of Gastronomy and Culinary Arts, KONYA
Orcid No: 0000-0001-7422-9375 / egunes@erbakan.edu.tr

² Necmettin Erbakan University, Institute of Social Sciences, Department of Gastronomy and Culinary Arts,
KONYA
Orcid No: 0000-0002-5199-4100/ serfebicer@gmail.com

Abstract: The pumpkin seed membrane (PSM), which is high in water retention in the study, was recycled as waste, intended to be used in terms of target-non-target creatures and to determine its effect on resistance formation. Nowadays, when fat intake is steadily increasing through nutrition, increased use of fat makes an individual vulnerable to stress. The study determined the effect of additional taken waste/nutrients on oxidative stress in obese individuals. The fatty diet and pumpkin seed effect were trialed in the model organism in the study. The amount of Malondialdehyde (MDA) and total oxidation (TOS) and total antioxidant effect (TAS) and glutathione-S-transferase (GST) activity in larvae, pupae, and adult of *Drosophila melanogaster* were calculated by adding different proportions of PSM (0.05-2 g) and fat (20%) to the diet. According to the data obtained: It was determined that the period with the highest oxidative stress index (OSI) is the pupae (pupae> larvae> female> male), the amount of lipid peroxidation (MDA) is higher in females, moreover, the third larvae is the most resistant stage. The results have shown that waste of seed membrane can't be useful in vivo as a nutrient due to usage limitation.

Keywords: *Drosophila*, glutathione-S-transferase, lipid peroxidation, nuts-pumpkin, oxidative stress index

Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Meyve Sineği Modelinde Besin Olarak Kabak Çekirdeği Zarının Değerlendirilmesi

Öz: Çalışma atık olarak geri dönüştürülebilir ve su tutma oranı yüksek olan kabak çekirdeği zarı (PSM), hedef-dışı canlılar açısından kullanılması ve direnç oluşumuna etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Beslenme yoluyla yağ alımının giderek arttığı günümüzde, artan yağ kullanımı bireyi strese karşı savunmasız hale getirmektedir. Obez bireylerde ek alınan atık/besin maddelerinin oksidatif stres üzerindeki etkisi de çalışma ile belirlenmiştir. Çalışmada model organizmada yağlı diyet ve kabak çekirdeği etkisi denenmiştir. *Drosophila melanogaster* diyetine %20 yağ ve farklı oranlarda PSM (0.05-2 g) eklenerek larva, pupa ve yetişkin bireylerde Malondialdehit (MDA) ve toplam oksidasyon (TOS) miktarı, toplam antioksidan etki (TAS) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi hesaplanmıştır. Elde edilen verilere göre: Oksidatif stres indeksinin (OSI) en yüksek olduğu dönemin pupa (pupa>larva>dişi>erkek) olduğu, kadınlarda lipid peroksidasyon (MDA) miktarının daha yüksek olduğu, ayrıca üçüncü larva en dirençli evre olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, kullanım sınırlaması nedeniyle tohum zarı atıklarının in vivo besin maddesi olarak yararlı olamayacağını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila*, glutatyon-S-transferaz, lipid peroksidasyonu, fındık-kabak, oksidatif stres indeksi

1. Introduction

Food products go through many stages until they arrive at the table from the field, where various waste can occur during

the production-consumption process.

Recently, studies on recycling food waste have become important (Töke and Ergülen, 2020; Güneysu, 2020; Filimonau et al.,

2021). Making food waste available by recycling alongside being of alarming size has set the stage for biological and biomedical research (Qiu et al., 2019; Güneş, 2020). Determining the availability of sustainable waste with little physiological impact on living things in a laboratory environment is important to solve or reduce this problem. Pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.) oil and bark are a product used for herbal treatment in various diseases and as a feed additive (Syed et al., 2019; Valdez-Arjona and Ramírez-Mella, 2019; Alshehry, 2020; Majid et al., 2020). While the use of the pumpkin seed membrane (PSM) is available in the paper and clothing industry, there are few studies on the possibility of a nutritional environment (Güneş and Biçer Bayram, 2019).

However, nutrition affects the quality of life of living as an important factor in the occurrence of chronic diseases (Blüher, 2020). Compounds added to standard nutrients are increasing in proportion to increased nutrient intake. Excessive fat intake, especially with diet, has become a global problem (Genç and Köse, 2019; Bocharova and Teplyakova, 2020; Sağlam and Soylu, 2019; Blüher, 2020; Bendor et al., 2020). Chronic diseases, particularly obesity, are on the rise because of an imbalance in the number of calories taken and calories consumed, with increased work time and inactivity at home, especially

during the last one-year COVID-19 pandemic period. A high-fat diet (HFD) has been associated with obesity, diabetes, and heart diseases, it has been stated, which can increase aging and oxidative stress by researchers (Alzoubi et al., 2018a; Lorizola et al., 2018; Cormier et al., 2021). Phytochemical herbal products and compounds that have an antioxidant effect, such as polyphenol, are used to reduce stress and body weight in living things or to increase the lifespan (Chen et al., 2017; Chung et al., 2018; Güneş, 2020; Mohamad et al., 2020; Zhang et al., 2020; Salama et al., 2020). Therefore, the oxidative stress of plant products and the nutritional relationship with the fatty diet is a current issue studied by researchers (Koh et al., 2013; Llana-Ruiz-Cabello et al., 2015; Maduagwuna et al., 2020; Uysal ve Çelik, 2021). Therefore, the availability of the supplemental product needs to be evaluated well.

Model organisms are organisms from which biological events and processes can be easily studied and inferred, without ethical need (Matthews et al., 2020; Nainu et al., 2020). In studies of obesity-induced by oxidative stress in nutrition, in determining the effectiveness of phytochemicals, they are used fruit flies as models of human disease (*Drosophila melanogaster* Meigen) (Siddique et al., 2005; Hazır et al., 2020). Experimental use of *D. melanogaster*, which

contains tissues corresponding to human tissues, is also increasing in the study of some diseases (obesity, diabetes) that occur because of today's dietary habits (Lüersen et al., 2019; Poças et al., 2020; Cormier et al., 2021; Güneş, 2021). They are also considered to be used in COVID-19 treatment and drug production in recent studies (Nainu et al., 2020).

When evaluating the availability of pumpkin seed membrane as a nutrient environment due to its strong water retention capacity for in vitro studies (Çankaya and Özcan, 2017; Syed et al., 2019; Alshehry, 2020), tried determining the effect on oxidative stress (malondialdehyde-MDA, glutathione-S-transferase-GST, total antioxidant level-TAS, total antioxidant level-TOS, oxidative stress index-OSI) in the obese model. Thus, suggestions have been developed for usage possibilities according to the resistance of the insect fed with PSM waste.

2. Material and Method

2.1. Material

In the study, commercial PSM was received by Pinar nuts, Nevşehir type in 2018–2019. After PSM was sterilized (30–40 °C), and added to foods without freezing. *D. melanogaster*'s strain (W^{1118}) was incubated in 50 ml falcon tubes with $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and 60%-70% relative humidity, 12/12 hours light/dark photoperiod. The standard

nutrient medium (SNM: mashed potatoes, sucrose, dry yeast, agar, nipagin, and ascorbic acid) prepared for culture food was used as described by Güneş and Büyükgüzel (2017). SNM was also used as an experimental diet and as a negative control group (1).

In the study, palmitic acid (20%, HFD, positive control group 2) was dissolved within Tween-80 and added to the hot SNM (Sun et al., 2010). Trial design groups; PSM 0.05 g/L (3), PSM 2 g/L (4), PSM 0.05 g/L + HFD (5), PSM 2 g/L + HFD (6) consist of these ingredients. The amount of PSM and HFN use were determined similar to the previous study (Güneş and Biçer Bayram, 2021). The females and males (5/1: about 100 individuals per bottle under carbon dioxide anesthesia) were taken for the culture, and they were mated for 48 h and the eggs were collected after six hours. Flies 1st stage larvae (100 individuals per bottle) were inoculated with experimental nutrient design and grown to the adult stage. 3rd stage larvae, pupae, and 3-day old virgin adult (20 female/20 male) stages were used for each trial in the biochemical analysis (lipid peroxidation product: MDA amount, antioxidant enzyme: GST activity, oxidative stress index: OSI, total antioxidant level and total oxidation level: TAS / TOS).

Samples were extracted with homogenization buffer (1.15% potassium

chloride, 25 mM dipotassium hydrogen phosphate, 5 mM ethylenediamine tetraacetic acid, 2 mM phenethylsulphonyl, 2 mM dithiollotitol, pH: 7.4) in an ultrasonic homogenizer at + 4 ° C. MDA amount (Jain and Levine method, 1995, 532 nm), GST (EC 2.5.1.18) activities (Habig et al., 1974, 340 nm), and total protein (Folin-Lowry, 1951, 600 nm) of samples were measured using a spectrophotometer. TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) and TAS (mmol Trolox Eq/L) of samples were measured, and oxidative stress index ($\text{OSI} = \text{TOS} / \text{TAS}$) was determined to the standard formula (Chen et al., 2017; Erel, 2005; Özgün et al., 2013; Güneş, 2021).

The statistical analysis of triplicate experiments included one-way analysis of variance (ANOVA) using SPSS software, followed by the least significant difference (LSD) test to identify significant differences between means. "Kruskal-Wallis" test was used to determine the changes in the stages of MDA and GST analysis. The significance of the mean between groups and stages was evaluated at the level of 0.05.

3. Results

About 0.05 g of PSM has no negative effects on the development of life, while the negatively affecting amount (LC_{50}) is 2 g (Güneş and Biçer Bayram, 2021) on insect.

3.1. Experimental Design and Analyzes

Looking at Table 1; the TOS levels of insects in the larval stage nutrition on PSM increased by $0.50 \mu\text{mol/L}$ in those fed with 2 g (S.E ± 0.1) compared to the control group. The oil addition (HFD + 2 g PSM) allowed this increase to increase to $2.00 \mu\text{mol/L}$. When the larval TAS levels were compared to control, the addition of PSM to the nutrient saw a severe decrease in total antioxidant activity from 8 to 0.005 mmol/L . According to the oxidative stress index, it is seen that stress starts with one gram of PSM and is highest at 2 g.

During the pupae stage, it was determined that oxidation with oil use increased to $32 \mu\text{mol/L}$. The insect was found to be feeding on PSM, causing it to drop to $1 \mu\text{mol/L}$. High concentration PSM and nutrition showed that oxidation continued at the same rate. Although the level of antioxidants increased in groups with no oil used during the same period, the use of PSM with oil was observed to decrease the level of TAS (1.00 mmol/L). Although the oxidative stress index showed fluctuations during the pupal period, the combination of 2 g of PSM and oil allowed us to rate it as the group with the highest stress (Table 1).

Table 1. TOS, TAS, and OSI values during fly developmental periods (standard errors are between 0.01–0.1 and are not displayed in the table; df: 35; P:Significance level)

Groups		TOS ($\mu\text{m/L}$)	TAS (mm/L)	OSI	P
Larvae (n:20)	1	1.5	8.0	0.2	*4 and 6 are similar, and different from others.
	2	1.8	9.0	0.2	
	3	0.5	4.0	0.1	
	4	2.0	0.1	20.0*	
	5	1.0	4.0	0.3	
	6	2.0	0.1	20.0*	
Pupae (n:20)	1	24.5	2.0	12.3	1,3,4,5 are similar, while others are different.
	2	32.0	5.0	6.4*	
	3	1.0	0.1	10.0	
	4	32.0	3.0	10.7	
	5	1.0	0.1	10.0	
	6	32.0	1.0	32.0**	
Female (n:20)	1	0.5	0.1	5.0	All groups are different from each other.
	2	1.5	0.1	18.8	
	3	3.0	0.1	27.3	
	4	5.5	0.2	32.4	
	5	1.5	0.1	12.5	
	6	8.5	0.2	53.1	
Male (n:20)	1	3.5	1.1	3.2	All groups are different from each other.
	2	4.5	3.6	1.3	
	3	7.0	0.1	70.0	
	4	3.0	0.4	7.5	
	5	9.5	0.1	95.0	
	6	8.5	0.1	106.0	

TOS activity in females increased by 3–3.5 $\mu\text{mol/L}$ with the use of PSM, has dropped by as much as 1.5 $\mu\text{mol/L}$ with the addition of oil. Oxidation at the highest concentration was determined to increase 8-fold to 8.5 $\mu\text{mol/L}$. However, TAS activity was found to be similar in female individuals with different concentrations of PSM intake. Oxidative stress index occurs at normal levels in female individuals in control groups, whereas feeding with PSM causes high stress and is even likely to produce lethal concentration (high oxidative stress) of HFD + 2 g of PSM (Table 1).

Although PSM increases oxidation in nutrition relative to TOS activities of the male individuals seen in Table 1, it has been stated that oxidation along with fat is approximately 3 times greater. Because total antioxidants are not sufficient in male individuals, OSI values were observed to be high. Although the oxidative stress index varied inversely in concentrations in PSM-fed men, the intake of PSM combined with high fat increased stress, resulting in reduced vitality and high oxidative stress.

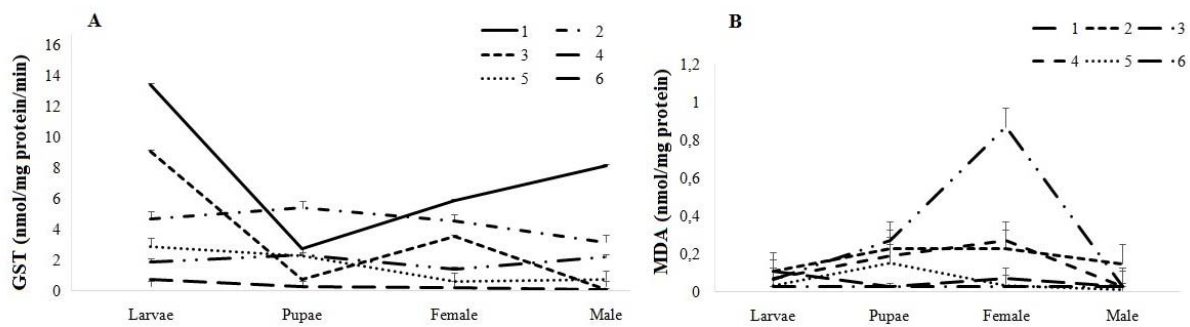


Figure 1. The adults antioxidant-resistance enzyme (A) and lipid peroxidation (B) during development stages, $P > 0.05$ (Kruskal-Wallis test)

According to Figure 1B, the amount of lipid peroxidation formed by larvae in the high-fat diet group was found to be the same as in the control group. Because of this result, PSM intake along with HFD for insects in the larval stage reduces the rate of lipid peroxidation. During the pupal stage, there are fluctuations in the amount of peroxidation, but it appears to increase the amount of MDA 5–9 times because of nutrition additional PSM to the fatty diet. While oxidation in the body fat of female individuals increased because of the amount of PSM, it was determined that with the use of fat this rising increased even higher, increasing of 0.87 ± 0.1 nmol/mg protein in the highest concentration of 2 g PSM + HFD. In male individuals, the use of PSM + fat was determined not to affect peroxidation, although statistically similar results were achieved with control.

If MDA analysis is interpreted between stages (Figure 1B); while the peroxidation of the pupae and female

individuals in the use of fat is excessive, the use of 0.05 g PSM does not appear to be effective between stages. There appears to be no change in female and male individuals despite reducing the amount of high fat intake MDA during the larval and pupal stage along with. The high amount of MDA in pupae and female individuals in high PSM groups indicates that females are more susceptible to oxidation. According to Figure 1A; Using PSM in the larval stage has decreased the resistance enzyme. With the addition of the high-fat diet, GST activity was further reduced, even dropping from 13.40 to 0.75 ± 0.1 (nmol/mg protein/min). During the pupal stage, pups in the HFD group were found to be about 2 times more resistant than control when comparing the resistance enzymes of insects to the control group. The resistance of pupae normalizes with increasing concentrations of PSM; GST activity decreased to 0.27 ± 0.1 (nmol / mg protein / min) in pupae fed with increasing concentrations of HFD + PSM.

GST activity has increased up to the use of 2 g PSM in females. However, individuals without nonresistant have formed. In men, resistance was not seen except for those who were fed only 2 g PSM.

If GST activity is interpreted between stages (Figure 1A); under normal conditions, it was found to be the most resistant stage (pupae < female < male < larvae) larval stage. With high fat intake, the resistance of the pupae phase appears to be increasing. However, in other stages (larval, female, male) resistance was reduced. The most resistant larvae in feeding at 0.05 g PSM were seen in females in the second. Besides fat intake, those fed 0.05 g PSM were determined to have greater GST activity in the larval and pupae stages. At 2 g, pupae and male individuals had the most GST activity. However, it was determined that the high-fat diet reduces resistance in stages or even reduces to amount to be called absent in male individuals (0.05 nmol/mg protein/min).

4. Discussion

Reactive oxygen species (ROS) cause oxidative stress by transporting molecular oxygen from the attack of unshared pairs of electrons; thus, fats, macromolecules such as proteins increase total oxidation in peroxide, and to *Drosophila* the toxic effect. (Guan et al.,

2017; Çolak and Uysal, 2018). Cellular oxidative damage is tried to be balanced with antioxidants taken from outside with cellular or nutrition. However, where the TAS mechanism is insufficient, a different response to stress (TAS <TOS, TAS = TOS, TAS > TOS) can be generated (Güneş, 2016 b). The amount of fat, protein, carbohydrates, vitamins found in the diet is as important in terms of removing tissue damage as the life parameters of insects (Adler and Bonduriansky, 2014; Unckless et al., 2015; Güneş, 2016a). The number of amino acids and proteins in flies fed rich nutrients by fatty diets can be reduced by being affected (Heinrichsen et al., 2014). So, experiments are planned considering the creation of obese model individuals. Our study shows that oxidative stress in the larval stage is highest at 2 g. In the pupae stage, 2 g of PSM taken with a high-fat diet was identified as the group with the highest stress. Holometabolic insects feed in the larval and adult stages, the oxidative stress index is in the form of larvae < pupae < adult (Güneş, 2016b). Female individuals are normally known to be oxidated individuals due to mating and egg production (Le Goff et al., 2006). Although virgin females were used in the study; according to OSI, it is determined that it causes high stress by feeding females with PSM and is even likely to produce fatal effects (high oxidative

stress) of HFD + 2 g PSM (Table 1). Male individuals appear to have high OSI values because total antioxidants are not sufficient. According to OSI, the nutrition of males with PSM varies inversely depending on concentration, but the intake of fat and PSM caused high oxidative stress, resulting in reduced vitality in individuals.

Antioxidant enzymes in *Drosophila*; (SOD, E.C. 1.15.1.1), (CAT, E.C. 1.11.1.6), (GSH, E.C. 2.5.1.18), Glutathione reductase (E.C. 1.8.1.10), GST, Disulfite reductase (E.C. 1.8.1.14), Methionine sulfoxide reductase (E.C. 1.8.4.12), Thioredoxin peroxidase (E.C. 1.11.1.15) (Missirlis et al., 2003; Güneş, 2016a and b). For example, in some studies, it was reported that CAT and GR amounts decreased and GST activity changed in *Drosophila* due to xenobiotics and aging (Durusoy et al., 1995; Fışkın and Asma, 1996; Yeşilada and Gelegen, 2000). It has been reported that the larvae are prevented from pupation because of not only chemicals or aging but feeding and the amount of lipid may increase in adult individuals in case of starvation, or dietary carbohydrate change may cause oxidative stress in the insect. Low unsaturated dietary fats may increase the amount of MDA (De Moed et al., 1999; Jordens et al., 1999; Sisodia and Sing, 2012; Güneş, 2016b). The study found that the uptake of HFD and PSM in the larval stage decreased the amount of MDA while increasing the pupal

stage by 5–9 times; while the amount of MDA due to the amount of PSM in females increased, the increase with the use of fat was seen to be even greater. In males, however, the use of PSM + oil was determined not to affect peroxidation. (Figure 1B). Adult individuals of 3–7 days are preferred for biochemical analyses. (Qiu et al., 2019). The three-day study of adults specifically determined that females were more open to lipid peroxidation than males (Figure 1B).

Pumpkin is a plant known as antioxidant effects (Nkosi et al., 2006; Perez Gutierrez, 2016). *Chenopodium ambrosioides* L. plant extracts can negatively affect *Drosophila* development and resistance (Wohlenberg and Lopes-da Silva, 2009). Which is more common in older and resistant individuals GST is a detoxifying enzyme and resistance enzyme (Piccoli et al., 2019). Using 10 mg of plants such as *Mangifera indica* causes GST activity to decline in *Drosophila* (Etuh et al., 2019). It can cause an increase or decrease in GST activity depending on the experimental model and the texture analyzed (Piccoli et al., 2019). In this study was found that while resistance decreased with the use of oil and PSM in the larval stage, GST activity decreased because of nutrition with HFD + PSM despite the formation of resistant individuals at the pupal stage. In female individuals, nutrition with PSM in

addition to the standard diet increased resistance, and the use of fat led to the formation of nonresistant individuals. With nutrition in males saw a decrease in the amount of GST. While GST activity is in the form of pupae < female < male < larvae among stages, it appears to reduce resistance in the pupae in another stage with high fat intake. High PSM nutrition, on the other hand, was found to be the most GST activity in pupae and male individuals but reduced resistance in the HFD stages (Figure 1A). GST activity is considered a biomarker of toxicity for environmental pollutants (Liu et al., 2015). While GST activity is excessive in the larvae, it supports the study (Vorojeikina et al., 2017).

There has been growing interest in clarifying the role of nutritional habits in the nervous system in studies of inferences with model organisms. It appears that increased HFD and refined sugar-rich diet can reduce cognitive function because of changing dietary habits. Also, there is an increasing interest in antioxidant functional foods and treatments (Alzoubi et al., 2018b). The addition of apple pulp to nutrients was found to be beneficial against oxidative stress and liver damage in mice whose obesity model was created over 30 days with HFD (Chen et al., 2017). Continuing to feed mice with

additional pineapple vinegar (produced from pineapple waste) to the HFD diet is known to lower cholesterol levels, lower blood glucose levels, increase antioxidant levels (Mohamad et al., 2020). *Nephelium lappaceum* L. shell waste added to the diet of obese individuals fed HFD is used to treat the damage caused by oxidative stress (Chung et al., 2018). While studies have shown that food waste can be useful in nutrition or in vivo as a nutrient environment, our study has not seen the same effect.

Conclusion

With high water retention capacity, PSM has been determined that high amounts cannot be tolerated by the insect, with small amounts of mixing of HFD-fed flies into the dietary environment increasing the insect's oxidative stress. Thus, although it was considered inappropriate to use PSM in the creation of a laboratory-fattening environment, it was believed that the resilient larval universe could be used in low quantities of PSM in designs as an experimental obesity model.

Acknowledgment

The study was produced from the second author's master's thesis.

References

- Alshehry GA (2020). Preparation and nutritional properties of cookies from the partial replacement of wheat flour using pumpkin seeds powder. *WJEB* 9(2): 48–56.
- Alzoubi KH, Hasan ZA, Khabour OF, Mayyas FA, Al Yacoub ON, Banihani SA, Azab MA, Alrabadi N (2018a). The effect of high-fat diet on seizure threshold in rats: role of oxidative stress. *Physiol behav* 96: 1–7.
- Alzoubi KH, Mayyas FA, Mahafzah R, Khabour OF (2018b). Melatonin prevents memory impairment induced by high-fat diet: role of oxidative stress. *Behav Brain Res* 336: 93–98.
- Bendor CD, Bardugo A, Pinhas-Hamiel O, Afek A, Twig G (2020). Cardiovascular morbidity, diabetes and cancer risk among children and adolescents with severe obesity. *Cardiovas Diabetol* 19(1): 1–14.
- Blüher M (2020). Metabolically healthy obesity. *Endocr Rev* 41 (3): 405–420.
- Bocharova OV, Teplyakova ED (2020). Children and adolescents' obesity is the 21st century health problem. *Kazan Med Journal* 101(3): 381–388.
- Chen L, Liu L, Li C, Hu C, Su F, Liu R, Zeng M, Zhao D, Liu J, Guo Y, Long J (2017). A mix of apple pomace polysaccharide improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the liver of high-fat diet-induced obese mice. *Mol Nutr Food Res* 61(3): 1600433.
- Chung AP, Gurtu S, Chakravarthi S, Moorthy M, Palanisamy UD (2018). Geraniin protects high-fat diet-induced oxidative stress in Sprague Dawley rats. *Front Nutr* 5: 17.
- Cormier RJ, Strang R, Menail H, Touaibia M, Pichaud N (2021). Systemic and mitochondrial effects of metabolic inflexibility induced by high fat diet in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem Mol Biol* 103556.
- Çankaya N, Muciz Ö (2017). A new functional additive obtained by using jet pulse filters: pumpkin seed membrane. *International Congress on Medicinal and Aromatic Plants (Tabkon)*, 343, Konya/Turkey.
- Çolak DA, Uysal H (2018). Evaluation of the lifespan of fruit fly *Drosophila melanogaster* exposed to dioxins. *Agric Nat* 21(5): 715.
- De Moed GH, Kruitwagen CLJJ, De Jong G, Scharloo W (1999). Critical weight for the induction of pupariation in *Drosophila melanogaster*: genetic and environmental variation. *J Evol Biol* 12(5): 852–858.
- Durusoy M, Diril N, Bozcuk AN (1995). Age-related activity of glutathione S-transferase in three different genotypes of *Drosophila melanogaster*. *Turkish J Biol* 19: 337–342.
- Erel O (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 38(12): 1103–1111.
- Etuh MA, Aguiyi JC, Ochala SO, Simeon O, Oyeniran OI, Oshibanjo OD, Pam D (2019). The In vivo antioxidant protective activity of *Mangifera indica* cold aqueous leaf extract in *Drosophila melanogaster*. *J Adv Biol Biotechnol* 22(2): 1–7.
- Filimonau V, Nghiem VN, Wang LE (2021). Food waste management in ethnic food restaurants. *Int J Hosp Manag* 92: 102731.

- FıŖkın K, Asma D (1996). *Drosophila melanogaster* Oregon (OR), yabanıl tipi (wt) ve vestigial (vg) mutantının ömür uzunluklarının karşılaştırılması. Antioksidatif enzimlerin ve ACE vitamin kompleksinin yaşlanma ile ilişkisi. *Turkish J Biol* 20: 99–110.
- Genç C, Köse B (2019). Obesity and Impulsivity. *Başkent University Faculty of Health Sci J* 4(2): 95–104.
- Guan XL, Wu PF, Wang S, Zhang JJ, Shen ZC, Luo H, Chen H, Long LH, Chen JG, Wang F (2017). Dimethyl sulfide protects against oxidative stress and extends lifespan via a methionine sulfoxide reductase A-dependent catalytic mechanism. *Aging Cell* 16(2): 226–236.
- Güneş E, Buyukguzel E (2017). Oxidative effects of boric acid on different developmental stages of *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae). *Turk Entomol Derg* 41(1): 3–15.
- Güneş E (2020). Extended longevity of *Drosophila melanogaster* by natural waste *Citrullus lanatus* seed. *IJEPEM* 3(4): 144–146.
- Güneş E (2021). Antioxidant effects of ankaferd blood stopper doped polyvinyl pyrrolidon in an experimental model created in insect. *Food Chem Toxicol* 148: 111935.
- Güneş E, Biçer Bayram Ş (2021). Determining the effect of pumpkin seed membrane on survival, development longevity in animal model. *KSÜ Agric Nat* (accepted and in string).
- Güneş E (2016a). *Drosophila* in food and nutrition studies. *KSÜ Agric Nat* 19(3): 236–243.
- Güneş E (2016b). The effect of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) on the total oxidative stress *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae). *KSÜ Agric Nat* 19(3): 261–267.
- Güneş E, Biçer Bayram Ş (2019). Kabak çekirdeği zarının in vivo kullanımı. ganud international conference on gastronomy. *Nutrition And Dietetics* 303–310, Gaziantep/Turkey.
- Güneysu S (2020). Change of domestic food waste and packages in COVID-19 process in Istanbul]. *National Environ Sci Res J* 3(4): 175–180.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249(22): 7130–7139.
- Hazır C, Bora G, Yurter HE (2021). *Drosophila melanogaster* Model in neurodegenerative disease research]. *UUJFE* 46(2): 237–245.
- Heinrichsen ET, Zhang H, Robinson JE, Ngo J, Diop S, Bodmer R, Joiner WJ, Metallo CM, Haddad GG (2014). Metabolic and transcriptional response to a high-fat diet in *Drosophila melanogaster*. *Mol Metab* 3(1): 42–54.
- Jain SK, Levine SN (1995). Elevated lipid peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic Biol Med* 18(2): 337–341.
- Jordens RG, Berry MD, Gillott C, Boulton AA (1999). Prolongation of life in an experimental model of aging in *Drosophila melanogaster*. *Neurochem Res* 24(2): 227–233.
- Koh T, Machino M, Murakami Y, Umemura N, Sakagami H (2013). Cytotoxicity of dental compounds towards human oral squamous cell carcinoma and normal oral cells. *In Vivo* 27(1): 85–95.

- Le Goff G, Hilliou F, Siegfried BD, Boundy S, Wajnberg E, Sofer L, Audant P, Hffrench-Constant R, Feyereisen R (2006). Xenobiotic response in *Drosophila melanogaster*: sex dependence of P450 and GST gene induction. *Insect Biochem Mol Biol* 36(8): 674–682.
- Liu H, He J, Zhao R, Chi C, Bao Y (2015). A novel biomarker for marine environmental pollution of pi-class glutathione S-transferase from *Mytilus coruscus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 118: 47–54.
- Llana-Ruiz-Cabello M, Gutiérrez-Praen D, Puerto M, Pichardo S, Jos Á, Cameán AM (2015). In vitro pro-oxidant/antioxidant role of carvacrol, thymol and their mixture in the intestinal Caco-2 cell line. *Toxicol In Vitro* 29(4): 647–656.
- Lorizola IM, Furlan CP, Portovedo M, Milanski M, Botelho PB, Bezerra R, Capitani CD (2018). Beet stalks and leaves (*Beta vulgaris* L.) protect against high-fat diet-induced oxidative damage in the liver in mice. *Nutrients* 10(7): 872.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265–275.
- Lüersen K, Röder T, Rimbach G (2019). *Drosophila melanogaster* in nutrition research—the importance of standardizing experimental diets. *Genes Nutr* 14(1): 1–5.
- Maduagwuna CA, Omale S, Etuh MA, Gyang SS (2020). Antioxidant activity of nHexane extract of Caryota no seed using *Drosophila melanogaster* model. *J Advan Biol Biotechnol* 39–47.
- Majid AK, Ahmed Z, Khan R (2020). Effect of pumpkin seed oil on cholesterol fractions and systolic/diastolic blood pressure. *Food Sci Technol (AHEAD)* 40(3): 769–777.
- Matthews BJ, Vosshall LB, Dickinson MH, Dow JA (2020). How to turn an organism into a model organism in 10 ‘easy’ steps. *J Exp Biol* 223(Suppl_1).
- Missirlis F, Rahlfs S, Dimopoulos N, Bauer H, Becker K, Hilliker A, Phillips JK, Jäckle H (2003). A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* encodes a thioredoxin peroxidase that provides resistance against oxidative stress but fails to complement a lack of catalase activity. *J Biol Chem* 384(3): 463–472.
- Mohamad NE, Yeap SK, Ky H, Liew NWC, Beh BK, Boo SY, Ho WY, Sharifuddin SA, Long K, Alitheen NB (2020). Pineapple vinegar regulates obesity-related genes and alters the gut microbiota in high-fat diet (HFD) C57BL/6 obese mice. *Evid Based Compl Altern Med* 1257962: 1–13.
- Nainu F, Rahmatika D, Emran TB, Harapan H (2020). Potential application of *Drosophila melanogaster* as a model organism in COVID-19-related research. *Front Pharmacol* 11: 1415.
- Nkosi CZ, Opoku AR, Terblanche SE (2006). Antioxidative effects of pumpkin seed (*Cucurbita pepo*) protein isolate in CCl4-Induced liver injury in low-protein fed rats. *PUBDB* 20(11): 935–940.
- Özgün E, Özgün GS, Eskiocak S, Yalçın Ö, Gökmen SS (2013). Effect of L-carnitine on serum paraoxonase, arylesterase and lactonase activities and oxidative status in experimental colitis. *Turk J Biochem* 38(2):145–153.
- Perez Gutierrez RM (2016). Review of *Cucurbita pepo* (pumpkin) its phytochemistry and pharmacology. *Med Chem* 6(1): 12–21.
- Piccoli BC, Segatto ALA, Oliveira CS, da Silva FDA, Aschner M, Da Roch JBT (2019). Simultaneous exposure to vinylcyclohexene and methylmercury in *Drosophila*

- melanogaster*: biochemical and molecular analyses. *BMC Pharmacol Toxicol* 20(1): 1–17.
- Poças GM, Crosbie AE, Mirth CK (2020). When does diet matter? The roles of larval and adult nutrition in regulating adult size traits in *Drosophila melanogaster*. *J Insect Physiol* 104051.
- Qiu S, Wang S, Xiao C, Ge S (2019). Assessment of microalgae as a new feeding additive for fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Sci Total Environ* 667: 455–463.
- Sağlam Ö, Soylu Y (2019). Investigation of the relationship between childhood traumas and adult obesity due to child rearing styles. *Turk J Social Work* 3(2): 136–150.
- Salama AA, Ismael NM, Bedewy M (2020). The anti-inflammatory and antiatherogenic in vivo effects of pomegranate peel powder: from waste to medicinal food. *J Med Food* 24(2): 145–150.
- Siddique HR, Chowdhuri DK, Saxena DK, Dhawan A (2005). Validation of *Drosophila melanogaster* as an in vivo model for genotoxicity assessment using modified alkaline Comet assay. *Mutagenesis* 20(4): 285–290.
- Sisodia S, Singh BN (2012). Experimental evidence for nutrition regulated stress resistance in *Drosophila ananassae*. *PloS One* 7(10): e46131.
- Sun X, Seeberger J, Alberico T, Wang C, Wheeler CT, Schauss AG, Zou S (2010). Açai palm fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves survival of flies on a high fat diet. *Exp Gerontol* 45(3): 243–251.
- Syed QA, Akram M, Shukat R (2019). Nutritional and therapeutic importance of the pumpkin seeds. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 21(2): 15798–15803.
- Töke LB, Ergülen A (2020). Approaches to solve the waste problem caused by globalization. *Çukurova Üniversitesi İBBF Derg* 24(2): 201–215.
- Unckless RL, Rottschaefer SM, Lazzaro BP (2015). The complex contributions of genetics and nutrition to immunity in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet* 11(3): 1–26.
- Uysal H, Çelik H (2021). Determination of in vivo chronic effects of astaxanthin in different strains of *Drosophila melanogaster*. *GUFBED* 11(1): 135–146.
- Valdez-Arjona LP, Ramírez-Mella M (2019). Pumpkin waste as livestock feed: Impact on nutrition and animal health and on quality of meat, milk, and egg. *Animals* 9(10): 769.
- Vorojeikina D, Broberg K, Love TM, Davidson PW, van Wijngaarden E, Rand MD (2017). Editor's highlight: glutathione S-transferase activity moderates methylmercury toxicity during development in *Drosophila*. *Toxicol Sci* 157(1): 211–221.
- Wohlenberg VC, Lopes-da-Silva M (2009). Effect of *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) aqueous extract on reproduction and life span of *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae). *Bioscience* 25(6): 129–132.
- Yeşilada E, Gelegen L (2000). The effect of cadmium nitrate on the longevity of *Drosophila Melanogaster*. *Turk J Biol* 24(3): 593–600.
- Zhang J, Liu X, Pan J, Zhao Q, Li Y, Gao W, Zhang Z (2020). Anti-aging effect of brown black wolfberry on *Drosophila melanogaster* and D-galactose-induced aging mice. *J Funct Foods* 65: 103724.

Endemik *Cousinia aucheri* DC. (*İnce Kızan*) Üzerine Anatomik, Palinolojik ve Mikromorfolojik Araştırmalar

Bayram ATASAGUN^{1*}, Deniz ULUKUŞ², Osman TUGAY³

*Sorumlu yazar: bayram.atasagun@selcuk.edu.tr

¹ Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0003-0097-5695 / bayram.atasagun@selcuk.edu.tr

² Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0002-9627-5492 / dulukus@selcuk.edu.tr

³ Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, KONYA
Orcid No: 0000-0003-3980-7648 / otugay@selcuk.edu.tr

Öz: *Cousinia*, Asteraceae'deki en büyük cinslerden biridir, Güneybatı ve Orta Asya'da 700 tür içermektedir. *Cousinia* seksiyonu Türkiye'de 23 tür ile temsil edilmektedir. *Cousinia*'nın taksonomisi tartışmalıdır. Anatomi ve polen morfolojisinin kullanılması, türlerin tanımlanması ve sınırlandırılması için faydalı bir araç olabilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada *Cousinia aucheri* DC'nin anatomik, palinolojik ve aken mikromorfolojik özelliklerini araştırmayı ve *Cousinia*'nın sistematiğine katkı sağlamayı amaçladık. Anatomik çalışmalar için gövde, yaprak ve orta damar kesitlerinde parafin yöntemi kullanıldı. Palizat parankima sayısı, orta damarın şekli, damar demetlerinin sayısı ve düzenlenişinin önemli taksonomik bilgiler sağladığı belirlendi. Polen preparatları Wodehouse yöntemine göre hazırlandı. Polen taneleri trikolporat aperture ve verrukat süslemeye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca akenlerin morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri araştırılmış ve yüzey süslemelerinin retipilat olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Asteraceae, *Cousinia*, Polen, Türkiye

Anatomical, Palynological and Micromorphological Studies on *Cousinia aucheri*, an Endemic Species

Abstract: *Cousinia* is one of the largest genera in the Asteraceae and includes 700 species in Southwest and Central Asia. The section *Cousinia* is represented by 23 species in Turkey. The taxonomy of *Cousinia* is contentious. The use of anatomy and pollen morphology can be a useful tool for species identification and delimitation. Therefore in this study, we aimed to investigate the anatomical, palynological and achene micromorphological characteristics of *Cousinia aucheri* DC. and to contribute to the systematics of *Cousinia* in this study. Paraffin method was used on stem, leaf and midrib sections for anatomical studies. It was determined that the number of palisade parenchyma, the shape of the midrib, the number and arrangement of the vascular bundles provide important taxonomic information. The pollen slides were prepared according to Wodehouse method. The pollen grains have tricolporate aperture and verrucate ornamentation. Furthermore, the morphological and micromorphological features of the achenes were investigated and their surface ornaments were found to be retipilate.

Keywords: Anatomy, Asteraceae, *Cousinia*, Pollen, Turkey

1. Giriş cinslerinden sonra *Cousinia* Asteraceae familyasının üçüncü büyük cinsidir. *Cousinia* (Asteraceae) Cardueae tribusunun en büyük cinsidir. *Vernonia* (Rechinger, 1986; Susanna ve Garcia-Jacas, Schreb. (1000 tür) ve *Senecio* (1500 tür) 2007). Bu cins Orta ve Batı Asya'da yayılış

gösteren 700 türle temsil edilmektedir. *Cousinia*, İran-Turan bölgesi için tipik bir cinstir ve yüksek oranda endemik türe sahiptir (Djamali ve ark., 2012). Güneybatı Asya'daki 400 *Cousinia* türünden 379'u endemiktir ve İran, Afganistan ve Türkmenistan'ın dağlık bölgelerinde yayılış göstermektedir (Rechinger, 1986; Knapp, 1987). Güney-Batı Asya ve Orta Asya'daki *Cousinia* cinsi için sekiz ana tür çeşitliliği merkezi tanımlanmıştır. Tür çeşitliliğinin en önemli merkezi, Orta Asya'daki Pamir-Alay dağ silsilesinde bulunmaktadır (Knapp, 1987). İran'ın Kuzey-Doğu ve Güney Türkmenistan'daki Horasan-Köpetdağ floristik bölgesi, 70'i bölgeye endemik olmak üzere yaklaşık 100 türün yaşadığı *Cousinia*'nın ikinci önemli biyoçeşitlilik merkezi olarak kabul edilmektedir (Rechinger, 1972, 1979).

Cousinia monofiletik değildir ve *Arctium* cinsi ile *Arctium-Cousinia* kompleksini içerir.

Cinsteki zayıf filogenetik ayırım nedeniyle (muhtemelen karakter eksikliğinden, bu tür açısından zengin ve nispeten genç soydaki yüksek takson sayısından dolayı) Cousinioid klanındaki türleşmenin esas olarak allopatrik olduğu öne sürülmüştür (Lopez-Vinyallonga ve ark., 2009).

Cousinia cinsi dünyada 70 seksiyona ayrılmıştır ve bunların en büyüğü 89 türle *Cynaroideae* Bunge seksiyonudur

(Rechinger, 1986). *Cousinia* cinsi Türkiye Florası'nda Huber-Morath tarafından yazılmıştır. Türkiye'de bu cins 6 seksiyon içerisinde toplam 38 tür ile temsil edilmektedir ve bunların 26'sı endemiktir. Türkiye bitkileri listesine göre ise ülkemizde 39 tür olduğu tespit edilmiştir (Tugay, 2012). Yeni tanımlanan tür ile birlikte Türkiye'de *Cousinia* cinsinin takson sayısı 40'a ulaşmıştır. *Cousinia* seksiyonu 20'si endemik, toplam 23 türle temsil edilmektedir (Tugay ve ark., 2019). Seksiyon üyelerinin Türkiye'deki türleri çok yıllık türlerdir ve çoğunlukla kuru yamaçlar, serpantin tepeler ve step alanlarda yayılış göstermektedir (Huber-Morath, 1975).

Cinsdeki geniş morfolojik değişkenlik nedeniyle, *Cousinia* taksonomisi karmaşık ve tartışmalıdır (Mehregan ve Assadi, 2016; Mabberley 2018). Ancak, polen morfolojisi, önemli türlerin sınırlandırılmasında faydalı olabilmektedir ve mevcut durumda kapsamlı palinolojik çalışmalar yürütülmektedir (Djamali ve ark., 2012; Dehghani ve ark., 2017, Atazadeh ve ark., 2020). Böylece polen morfolojisine dayanan Schtepa (1966, 1976), Kuprianova ve Tscherneva (1982) ve Susanna ve ark. (2003), *Arctiastrum* ve *Cousinia* cinsinde iki farklı polen tipi tanımlamışlardır. *Cousinia* polen tipi, trikolporat ve eliptik-oblong veya uzun polar eksenli sferoidaldır (Atazadeh ve ark., 2020). Ayrıca, Attar ve ark. (2004), *Cousinia*'nın *Serratuloideae* seksiyonuna ait

14 türle yapmış oldukları anatomik çalışmada orta damar şekline ve yaprak yapısına göre bu türlerin taksonomik olarak ayrılabilceğini belirtmişlerdir. Türlerin tanımlanması ve sınırlandırılması, seksiyonal sınıflandırma ve *Cousinia* cinsi içindeki türler arasındaki ilişkiler, moleküler araştırmalardan sonra bile tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Susanna ve ark., 2003; Ghaffari ve ark., 2006; Lopez-Vinyallonga ve ark., 2009; Mehregan ve Assadi, 2016). Bu nedenle bu çalışmada, şimdiye kadar anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik özellikleri belirlenmemiş olan *C. aucheri* türünün bu özelliklerini belirlemeyi ve bu karakterlerin cinsin taksonomisinde kullanılmasına katkı sağlamayı amaçladık.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan bitki örnekleri aşağıda belirtilen lokaliteden toplanmıştır;

B7 Elazığ; Baskil, Sarıgül Köyü, step, 1680 m, 30.07.2021, *B. Atasagun - 1113, D. Ulukuş & O. Tugay* (Şekil 1).

Anatomik çalışmalarda kullanmak amacıyla bitkinin gövde ve yapraklarından örnekler alınarak % 70'lik alkol bulunan şişelerde saklanmıştır. Daha sonra bu örneklerle ait gövde, yaprak ve orta damarlar

(midrib) küçük parçalara ayrılıp, parafin yöntemiyle mikrotomla 8-10 µm kalınlığında enine kesitler alınmıştır (Johansen, 1940). Kesitler ikili boyama (safranin-fast green) yöntemine göre boyanmıştır ve sabit preparat haline getirilmiştir (Vardar, 1987). Sabit preparatlar Leica DM750 marka ışık mikroskobunda fotoğrafları çekilerek incelenmiş ve ölçümleri yapılmıştır.

Palinolojik araştırmalar için, bitkinin çiçeklerinden alınan polenler kullanılmış ve Woodehouse Yöntemi (1935) ile preparatlar hazırlanmıştır. Leica DM750 marka ışık mikroskobu vasıtasıyla ortalama 30 polene ait palinolojik karakterler ölçülmüştür. Polenlerin yüzey süslemesini daha detaylı incelemek amacıyla SEM görüntüleri alınmıştır. Bitki türlerinin polen morfolojisi ve yüzey süslemesi analizleri, çeşitli kaynaklardan faydalanılarak belirlenmiştir (Faegri ve Iversen, 1989; Punt ve ark., 2007; Hesse ve ark., 2009).

Aken, en ve boy uzunluklarını belirlemek için ortalama 20 adet ölçüm yapılmıştır. Tohum yüzey süslerinin belirlenmek amacıyla SEM fotoğrafları kullanılmıştır. Tohum yüzey süsleri analizi Stearn (1983)'in terminolojisine göre yapılmıştır.



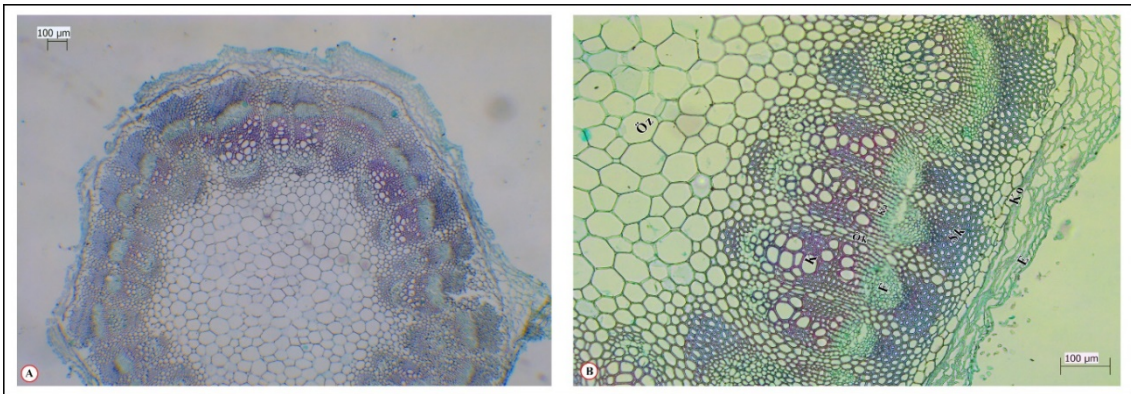
Şekil 1. *Cousinia aucheri*'nin A. Habitat B. Kapitula görünümü

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

3.1. Anatomik Bulgular

C. aucheri'nin gövde enine kesitinde; en dışta koruyucu doku olarak tek sıralı epidermis tabakası bulunmaktadır. Epidermis hücreleri dikdörtgenimsi hücrelerden meydana gelmiş olup hücre boyutları $6.52-31.9 \times 9.76-19.32 \mu\text{m}$ 'dir. Epidermis hücrelerinin üzerinde kütikula tabakası bulunmaktadır. Epidermis tabakasının altında 7-8 sıralı dörtgen, beşgen ve oval şekillere sahip korteks parankimasi bulunmaktadır. Yoğun bir şekilde dizilmiş 10-15 sıralı hücrelerden oluşan $61.34-238.19 \times 67.43-125.61 \mu\text{m}$ boyutlarında

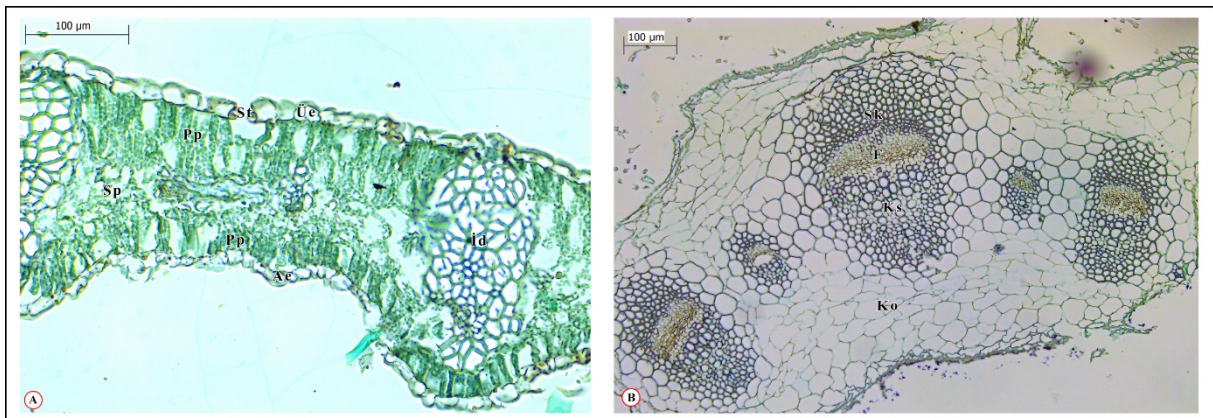
sklerenkima tabakası yer almaktadır. İletim demetleri gövde eksenine paralel olarak dizilmiştir. Floem tabakası yoğun küçük hücrelerden meydana gelmiş olup boyutları $22.24-264.25 \times 35.86-162.8 \mu\text{m}$ 'dir. Floem ile ksilem arasında 4-5 sıralı kambiyum tabakası göze çarpmaktadır. Merkezi kısma doğru trake hücreleri dörtgenimsi ve oval hücrelerden meydana gelmiş olup boyutları $8.25-44.91 \times 7.88-41.97 \mu\text{m}$ 'dir. Demetler arasında 4-5 sıralı öz kolları yer almaktadır. Merkezde ise beşgen şekilde hücrelerden meydana gelmiş, iyi gelişmiş bir öz bölgesi bulunmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. *Cousinia aucheri*'nin gövde enine kesiti (E: Epidermis, Ko: Korteks, Sk: Sklerenkima, F: Floem, Ka: Kambiyum, K: Ksilem, Ök: Öz Kolları)

Yapraktan alınan enine kesitte; üst ve alt kısımda tek sıralı düzenli dizilmiş dikdörtgenimsi hücrelerden oluşan epidermis tabakası yer almaktadır. Üst epidermis hücreleri alt epidermis hücrelerine göre daha büyüktür ve boyutları 9.54-18.74 x 12.09-28.2 µm arasında değişmektedir. Alt epidermisin hücre boyutları 9.28-14.10 x 10.06-13.73 µm arasındadır. Üst epidermis ve alt epidermis arasında kalan mezofil dokusu parankimatik özellikte olup palizat-sünger-palizat şeklinde sıralanmıştır. Üst taraftaki palizat hücreleri iki sıralı, bol kloroplastlı ve silindirik şekilli hücrelerden meydana gelmiş olup, hücre boyutları 6.88-10.35 x 22.23-31.24 µm arasındadır. Sünger parankiması hücreleri ise düzensiz şekilli olup boyutları 12.88-20.98 x 20.51-27.46 µm arasında değişmektedir. Yaprak ekvifasiyal tipte olup, orta kısımda kollateral tipte büyük bir iletim demeti yer almaktadır (Şekil 3A). Orta damardan alınan enine kesitlerde orta damar şeklinin

dikdörtgenimsi olduğu, 3 tanesi büyük 3 tanesi küçük olmak üzere toplam 6 tane iletim demeti belirlenmiştir. Ksilem ve floem dokularının etrafı sklerenkima dokusu ile çevrelenmiştir. Vasküler demetlerin hem üst hem de alt kısmından epidermise kadar parankima hücreleri ve kollenkima bulunmaktadır. Parankimatik hücreler beşgenimsi ve altıgenimsi hücrelerden meydana gelmiştir. Alt epidermisin kollenkima aralığı 36.73-315.63 µm, üst epidermisin kollenkima aralığı ise 50.3-183.8 µm'dir. Ksilem adaksiyal (eksene yakın), floem ise abaksiyal (eksenden uzak) tarafta yer almıştır. Ksilem dokusu iyi gelişmiş olup, trake elemanları oval ve altıgenimsi şekildedir ve hücre boyutları 6.76-25.34 x 5.47-22.19 µm arasında değişmektedir. Floem dokusu yoğun olup, çok küçük boyutta hücrelerden meydana gelmiştir ve tabaka boyutları 87.5-201.31 x 55.14-198.5 µm arasındadır (Şekil 3B).



Şekil 3. *Cousinia aucheri*'nin A. Yaprak enine kesiti, B. Midrib (orta damar) enine kesiti (Üe: Üst epidermis, St: Stoma, Pp: Palizat parankiması, Sp: Sünger Parankiması, İd: İletim Demeti, Ae: Alt Epidermis, Ko: Korteks, Sk: Sklerenkima, F: Floem, K: Ksilem)

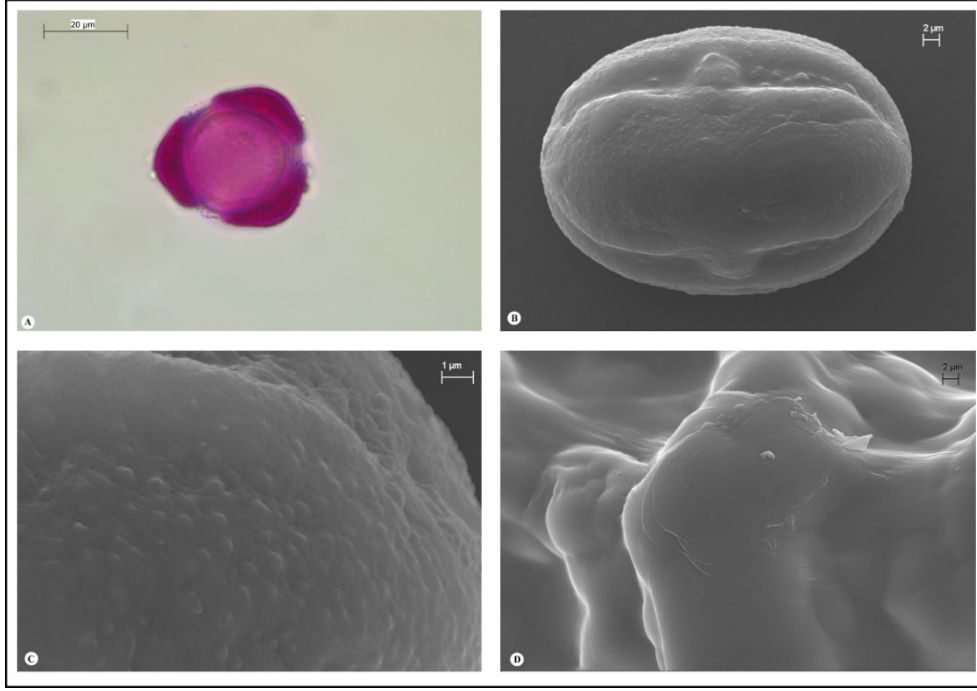
3.2. Palinolojik Bulgular

C. aucheri'nin polen taneleri radyal simetrik, izopolar, trikolporattır. Polen şekli subprolat, büyük ölçekte, polar eksen 55.97-43.96 μm , ekvatoryal eksen 41.12-32.86 μm . Amb 32.62-22.22 μm , circular (dairesel). Ornamentasyon verrukattır. Kolpus uzunluğu 47.37-34.91 μm , kolpus genişliği 14.91-6.45 μm . Por şekli oblat (Plg 9.35-5.02 μm , Plt 16.95-9.63 μm). Ekzin 3.5 μm , intin 1.57 μm kalınlıktadır (Şekil 4, Tablo 1).

Tablo 1. *Cousinia aucheri*'nin polen morfolojik özellikleri

	M	σ	Max. - Min.
P (μm)	49.14	2.46	55.97-43.96
E (μm)	36.94	1.73	41.12-32.86
P/E	1.33	0.04	1.42-1.28
clg (μm)	42.16	2.96	47.37-34.91
clt (μm)	10.18	2.01	14.91-6.45
plg (μm)	6.82	1.13	9.35-5.02
plt (μm)	13.17	1.82	16.95-9.63
Plg/Plt	0.53	0.12	0.82-0.36
t (μm)	38.34	2.76	42.88-32.26
L=AMB (μm)	26.43	2.22	32.62-22.22
Eksin (μm)	3.50	1.05	6.28-2.01
İntin (μm)	1.57	0.33	2.2-0.87
Polen Şekli	Subprolat		
Apertür	Trikolporat		
Por şekli	Oblate		
Ornamentasyon	Verrukat		
Ölçü Sınıfı (size)	Büyük		

(P: Polar çap, E: Ekvatoral çap, L (AMB): Polenin polar görünüşünün dış sınırı, clg: Kolpus uzunluğu, clt: Kolpus genişliği, plg: Por uzunluğu, plt: Por genişliği, t: Kolpus uçlarının birbirine olan uzaklığı)

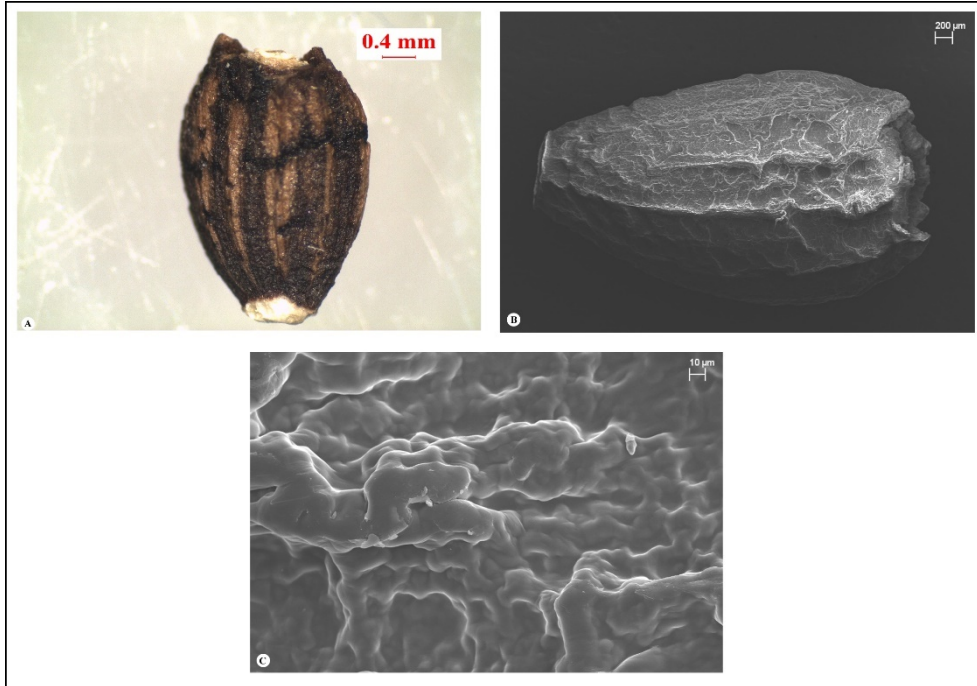


Şekil 4. *Cousinia aucheri* polenin A. Işık mikroskobunda polar görünüş, B. SEM’de ekvatoryal görünüş, C-D. SEM’de yüzey süslemesinin görünüşü.

3.3. Aken Bulguları

C. aucheri’nin akenleri siyahımsı kahverengi, oblong-obovat şekilli, belirgin çizgili, uç kısmında açıkça dişli. Boyu 3-5

mm, eni 2-3 mm’dir. Yüzey ornemantasyonu retipilate, pappus bristleri barbellat; 2- 3 mm (Şekil 5).



Şekil 5. *Cousinia aucheri* akeninin morfolojik görüntüleri (A. Işık mikroskobu, B. Elektron mikroskobu (SEM), C. Tohum yüzey görünüşü (SEM)

4. Tartışma

Cousinia cinsindeki geniş morfolojik değişkenlik nedeniyle, taksonomisi karmaşıktır ve çözülmemiştir (De Candolle, 1837; Huber-Morath, 1975; Mehregan ve Assadi, 2016; Mabberley, 2018). Polen morfolojisi, cins içindeki taksonomik ve filogenetik belirsizlikleri çözmek için ek bir araç gibi görünmektedir (Saber ve ark., 2009; Ahmad-Khanbeygi ve ark., 2011; Atazadeh ve ark., 2020). Saber ve ark. (2009) *Stenocephalae* seksiyonundan 25 türün polen morfolojisini incelemişlerdir. İncelenen türlerin polen taneleri prolate, izopolar, trikolporat ve ekzin yoğun veya gevşek verrukat olduğu belirlenmiştir. Ahmad-Khanbeygi ve ark. (2011) *Cousinia* seksiyonunda 8 türe ait 16 populasyon üzerinde morfolojik ve palinolojik çalışmalar yapmışlardır. Polen taneleri küresel veya silindirik şekilde, trikolpat, eksin yüzey süslemesi ise verrukat-perforat olarak tespit edilmiştir. Jafari ve Ghanbarian (2007) *C. eriobasis* türünün polen şeklinin subprolat ve verrukoz yüzey süsüne sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ulukuş ve Tugay (2019a) *Cousinia halysensis*'in polen yüzey süsünü verrukoz ve polen şeklinin subprolat olarak belirlemişlerdir. Ulukuş ve Tugay (2020a) *C. foliosa* türünün anatomisi ve palinolojisini inceledikleri çalışmada polen şekli subprolat, yüzey süslemesi ise verrukoz olarak tespit edilmiştir. Atazadeh

ve ark. (2020) *Cynaroideae* and *Platyacanthae* seksiyonlarına ait türlerin polen morfolojileri üzerine bir çalışma yapmışlardır. Ayrıca, çalışma, polen morfolojisine dayalı seksiyon ve tür sınırlamalarının yanı sıra palinolojik özelliklere dayalı türler arasındaki ilişkileri de ele almaktadır. İncelenen türlerin polen taneleri monad, eliptik, trikolporat ve isopolardır. Eksin süslemesi yoğun verrukattan seyrek verrukata kadar değişmektedir. Her iki seksiyondaki çoğu türün polen taneleri prolate iken, bazı türler Moore ve ark. (1991) tarafından yapılan tanımlamaya göre perprolate tanelere sahip olduğu belirlenmiştir. İncelenen *Cousinia* türleri, polen özellikleri ve polen tanelerinin yararlı taksonomik özellikleri kullanılarak birbirinden açıkça sınırlandırılabilmesi belirtilmiştir. Tarafımızdan yapılan bu çalışmada *C. aucheri*'nin polen tanelerinin trikolporat, polen şeklinin subprolat, ornemantasyonun verrukat olması *Cousinia* cinsinin polen karakterleriyle uyumlu olduğunu göstermiştir.

Attar ve ark. (2004) *Cousinia* cinsinin *Serratuloideae* seksiyonunda yer alan türlerin yaprak ve gövdenin karşılaştırmalı anatomik özelliklerini incelemişlerdir. Bazı küçük farklılıklar dışında gövde yapısının tüm türler için aynı olduğunu, yaprak ve orta damar özelliklerinin ise türler arasında farklılık

gösterdiği belirlemiştir. Yaprak anatomisinde palizat parankima tabakasının sayısının, orta damar şeklinin, iletim demetlerinin sayısı ve düzenlenişinin türlerin ayırımında önemli karakterler olduğu rapor edilmiştir. Ulukuş ve Tugay (2020b) *Cousinia eleonora* ve *Cousinia humilis*'in anatomik, palinolojik ve morfolojik özelliklerini incelediklerini çalışmada, korteksteki hücre sayısı, iletim demeti sayısı ve orta damar şekli gibi anatomik karakterleri türlerin ayırımında önemli karakterler olarak belirlemiştir. Ulukuş ve Tugay (2019b) *C. iconica* türünün mikromorfolojik, anatomik ve palinolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmada, korteks tabakası sayısı, iletim demeti sayısı ve midrib şeklinin önemli yapılar olduğu belirtilmiştir. Tarafımızdan yapılan çalışmada da *C. aucheri* türünün anatomik özellikleri, anatomik özellikleri belirlenen yukarıdaki türlerle kıyaslandığında gövde yapısının benzer olduğu, palizat parankima sayısı, midrib şekli, iletim demetlerinin sayı ve düzenlenişleri arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Yaptığımız SEM çalışmaları sonucunda *C. aucheri* akenlerinin oblong-

obovat şekilli, yüzey süslemesinin retipilat olduğu tespit edilmiştir. Ulukuş ve Tugay (2019a) *C. halysensis* türü tohum yüzeyinin retipilat, *C. iconica* aken yüzeyinin retikulat-sitriat (2019b), *C. eleonora* ve *C. humilis* aken yüzeyinin striat-düzensiz retikulat (2020), *C. agridaghensis* ve *C. urumiensis* aken yüzeylerinin ise striat-düzensiz retikulat-faveolat (Tugay ve ark., 2019) olarak belirlemiştir. Çalışma sonuçlarımızın *Cousinia* cinsinin aken özellikleriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, *C. aucheri* türünün gövde, yaprak ve orta damar anatomileri, polen ve aken mikromorfolojik özellikleri ilk kez detaylıca verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *Cousinia* cinsi ile ilgili ileride yapılacak palinolojik, mikromorfolojik ve anatomik çalışmalara ışık tutacak ve incelemeler neticesinde önemli olduğu belirlenen karakterlerin cinsin sistematik çalışmalarına katkı sağlayacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi (Proje No: 20401134)'ne teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

- Ahmad-Khanbeygi Z, Sheidai M, Attar F (2011). Morphometry and palynological study of the genus *Cousinia* sect. *Cousinia* (Asteraceae) in Iran. *Iran J Bot* 17: 158–166.
- Atazadeh N, Sheidai M, Attar F, Ghahremaninejad F, Koohdar F (2020). A palynological study of genus *Cousinia* Cass. (Family Asteraceae), sections *Cynaroideae* Bunge and *Platyacanthae* Rech. f. *Grana* 59: 428–443.

- Attar F, Ghahreman A, Mahdigholi K, Sheidai M (2004). Anatomy-taxonomy studies of the species of section *Serratuloideae* (*Cousinia*, Compositae) in Iran. *Iran J Bot* 10: 119–141.
- De Candolle AP (1837). *Cousinia* in prodromus systematicis naturalis regni vegetabilis. *Parisiis* 6: 552–557.
- Dehghani M, Djamali M, Gandouin E, Akhiani H (2017). A pollen rain-vegetation study along a 3600 m mountain-desert transect in the Irano-Turanian region; implications for the reliability of some pollen ratios as moisture indicators. *Rev Palaeobot Palynol* 247: 133–148.
- Djamali M, Baumel A, Brewer S, Jackson ST, Kadereit JW, Lopez-Vinyallonga S, Mehregan I, Shabaniyan E, Simakova A (2012). Ecological implications of *Cousinia* Cass. (Asteraceae) persistence through the last two glacial–interglacial cycles in the continental Middle East for the Irano-Turanian flora. *Rev Palaeobot Palynol* 172: 10–20.
- Fægri K, Iversen J (1989). Textbook of pollen analysis. John Wiley and Sons, Chichester.
- Ghaffari SM, Garcia-Jacas N, Susanna A (2006). New chromosome counts in the genus *Cousinia* (Asteraceae) from Iran. *Bot J Linn Soc* 151(3): 411–419.
- Hesse M, Halbrott H, Zetter R, Weber M, Buchner R, Frosch-Radovo A, Ulrich S (2009). Pollen terminology: an illustrated handbook. Springer Verlag/Wien, New York.
- Huber-Morath A (1975). *Cousinia* Cass., Davis PH (Ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol 5: pp. 329–353. *Edinburgh University Press*, Edinburgh.
- Jafari E, Ghanbarian G (2007). Pollen morphological studies on selected taxa of Asteraceae. *J Plant Sci* 2(2): 195–201.
- Johansen DA (1940). Plant Microtechnique. *McGraw-Hill*, New-York.
- Knapp HD (1987). On the distribution of the genus *Cousinia* (Compositae). *Plant Syst Evol* 155(1-4): 15–25.
- Kuprianova LA, Tscherneva OV (1982). Pollen morphology and ultrastructure of palynoderma in the species of the genus *Cousinia* (Asteraceae) in the relation to the systematics of the genus. *Botaničeskij Žurnal* 67: 581–589.
- Lopez-Vinyallonga S, Mehregan I, Garcia-Jacas N, Tscherneva O, Susanna A, Kadereit JW (2009). Phylogeny and evolution of the *Arctium-Cousinia* complex (Compositae, Cardueae-Carduinae). *Taxon* 58(1): 153–171.
- Mabberley DJ (2018). The plant book. Cambridge: Cambridge University.
- Mehregan I, Assadi M (2009). A synopsis of *Cousinia* sect. *Pseudactinia* (Cardueae, Asteraceae) including a new species from NE Iran. *Willdenowia* 39(2): 265–271.
- Mehregan I, Assadi M (2016). A synopsis of *Cousinia* sect. *Pseudactinia* (Cardueae, Asteraceae) including a new species from NE Iran. *Phytotaxa* 257(3): 271.
- Moore PD, Webb JA, Collinson ME (1991). Pollen analysis. London: Blackwell Scientific.
- Punt W, Hoen PP, Blackmore S, Nilsson S, Thomas A (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Rev Palaeobot Palynol* 143(1-2): 1-81.

- Rechinger KH (1972). *Compositae-Cynareae I: Cousinia*. In: Rechinger K.H. (Ed.) *Flora Iranica* 90: 1–329.
- Rechinger KH (1979). *Compositae III-Cynareae. Cousinia*. In: Rechinger K.H. (Ed.) *Flora Iranica* 108–153.
- Rechinger KH (1986). *Cousinia: morphology, taxonomy, distribution and phytogeographical implication*. *Proc R. Soc Edinb* 89B: 45–58.
- Saber A, Attar F, Djavadi B (2009). Studies of pollen grains in the sect. *Stenocephalae* (*Cousinia* Cass. - Asteraceae) in Iran. *Iran J Bot* 15: 114–128.
- Schtepa IS (1966). On the problem of the affinity between the genera *Arctium* L. & *Cousinia* Cass. of the family Compositae. The importance of palynological analysis for the stratigraphy and paleofloristic investigation. Leningrad: Akademiya Nauk SSSR.
- Schtepa IS (1976). Palynological investigation of *Cousinia* sect. *Eriocousinia* (Compositae). *Proceeding of the 4th International Palynological Conference*, 31–33. Leningrad: Academy of Science of the USSR.
- Stearn WT (1983). *Botanical Latin*. 566 David & Charles. London.
- Susanna A, Garcia-Jacas N, Vilatersana R, Garnatje T (2003). Generic boundaries and evolution of characters in the *Arctium* group: A nuclear and chloroplast DNA analysis. *Collect Bot (Barcelona)* 26: 101–118.
- Susanna A, Garcia-Jacas N (2007). Tribe *Cardueae*. In Kubitzki, K. (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants, Springer*. Verlag Berlin Heidelberg. 8: 123–146.
- Tugay O (2012). *Cousinia*. (Editörler A. Güner, S. Aslan, T. Ekim, M. Vural MT, Babaç. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Tugay O, Ulukuş D, Ertuğrul K, Uysal T, Demirelma H, Dural H (2019). A new species of *Cousinia* (sect. *Cousinia*, Asteraceae) from the Ağrı Mountain (eastern Turkey): evidence from morphology, karyology and anatomy. *Phytotaxa* 427(4): 259–269.
- Ulukuş D, Tugay O (2019a). Endemik *Cousinia halysensis* Hub.-Mor. (Papatyagiller/Asteraceae) türünün anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik yönden incelenmesi. *Bağbahçe Bilim Dergisi* 6 (1): 59–65.
- Ulukuş D, Tugay O (2019b). Micromorphological, palynological and anatomical properties of endemic *Cousinia iconica* Hub.-Mor. (sect. *Cousinia* /Asteraceae). *Bağbahçe Bilim Dergisi* 6(2): 58–63.
- Ulukuş D, Tugay O (2020a). Türkiye için endemik bir bitki olan *Cousinia foliosa* Boiss. & Balansa (asteraceae) üzerine anatomik ve palinolojik çalışmalar. *S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi* 46(2): 118–125.
- Ulukuş D, Tugay O (2020b). Morphology, anatomy and palynology of two endemic *Cousinia* Cass. Species (Sect. *Cousinia*, Asteraceae) and their taxonomic implications. *Pak J Bot* 52(1): 297–304.
- Vardar Y (1987). Mikroperasyon yöntemleri. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:1. Ege Üniversitesi Baskı İşleri*, İzmir.

Endemik *Cousinia decolorans* Freyn & Sint. (Asteraceae) Türünün Anatomik, Palinolojik ve Mikromorfolojik Özellikleri

Deniz ULUKUŞ^{1*}, Bayram ATASAGUN², Osman TUGAY³

*Sorumlu yazar: dulukus@selcuk.edu.tr

¹ Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0002-9627-5492 / dulukus@selcuk.edu.tr

² Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, KONYA
Orcid No: 0000-0003-0097-5695 / bayram.atasagun@selcuk.edu.tr

³ Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, KONYA
Orcid No: 0000-0003-3980-7648 / otugay@selcuk.edu.tr

Öz: *Cousinia* (Asteraceae, Cardueae) cinsi çiçekli bitkiler içerisinde tür sayısı bakımından 50. büyük cins ve Asteraceae familyası içerisinde yaklaşık 700 türle temsil edilen en büyük cinslerden biridir. Bu çalışma, *Cousinia* seksiyonu içerisinde yer alan *Cousinia decolorans* türünün anatomik, palinolojik mikromorfolojik özelliklerinin belirlenerek cinsin sistematığına katkı sağlamak amacıyla yapılmıştır. *C. decolorans* türünün polen mikromorfolojik özellikleri çalışılmış ve türe ait fotoğraflar verilmiştir. Bu türün anatomik çalışmasında gövde, yaprak ve orta damar özellikleri tespit edilerek fotoğrafları verilmiştir. Anatomik çalışmalar için bitki kısımları parafine gömülmüş ve dokuların boyanma işlemi için safranin fast green boyama metodu uygulanmıştır. Anatomik karakterlerden orta damar şeklinin yarıorbikular ve orta damardaki iletim demeti sayısının 3 olmasıyla bu karakterlerin türler arasında ayırıcıda kullanılabileceği belirlenmiştir. Palinolojik çalışmalarda ışık mikroskobu kullanılarak polen şeklinin prolat olduğu tespit edilmiştir. Polen ekzin yüzey süslerinin belirlenmesi için SEM mikroskobu kullanılıp, polenlerin fotoğrafları çekilmiş ve polen yüzeylerinin verrukat olduğu belirlenmiştir. Ayrıca akenlerin morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri incelenmiş ve yüzey ornamentasyonunun retipilat olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, *Cousinia*, Palinoloji, Mikromorfoloji, Türkiye

Anatomical, Palynological and Micromorphological Characteristics of Endemic *Cousinia decolorans* Freyn & Sint. (Asteraceae)

Abstract: The genus *Cousinia* (Asteraceae, Cardueae) is the 50th largest genus in terms of the number of species among flowering plants and one of the largest genera represented by approximately 700 species in Asteraceae family. This study is carried out in order to contribute to the systematics of the genus by determining the anatomical, palynological micromorphological features of the *Cousinia decolorans* in the section *Cousinia*. Pollen micromorphological features of *C. decolorans* is studied and photographs of the species are given. In anatomical study of this species, the stem, leaf and midrib features are determined and their photographs are given. For anatomical studies, plant parts are embedded in paraffin and for the staining of tissues, the safranin fast green staining method is applied. It has been determined that these characters can be used to distinguish between species, as the midrib shape is semiorbicular and the number of vascular bundles in the midrib is 3. In palynological studies, it is determined that the pollen shape is prolate using light microscopy. SEM microscope is used to determine the surface ornaments of the pollen exine, photographs of the pollen are taken and it is determined that the pollen surfaces are verrucate. Moreover, morphological and micromorphological properties of the achenes are examined and surface ornamentations are determined as retipilate.

Keywords: Anatomy, *Cousinia*, Palynology, Micromorphology, Turkey

1. Giriş

Cousinia (Asteraceae, Cardueae) cinsi çiçekli bitkiler içerisinde tür sayısı bakımından 50. büyük cins ve Asteraceae familyası içerisinde yaklaşık 700 türle temsil edilen en büyük cinslerden biridir (Frodin, 2004; Ulukuş ve Tugay, 2020). *Cousinia* cinsi Batı ve Orta Asya'da yayılış göstermektedir. Tipik İran-Turan fitocoğrafik bölgesinin özelliklerini taşıyıp yüksek endemizm oranına sahiptir (Djamali ve ark., 2012). Endemik bitkilerin çoğunluğu İran, Afganistan ve Türkmenistan dağlarında yayılış göstermektedir (Rechinger, 1986; Knapp, 1987).

Bunge (1865) *Cousinia* cinsi ile ilgili morfolojik verileri kullanarak ilk detaylı çalışmaları gerçekleştirmiştir. Bunge ve bazı araştırmacılar cins ile ilgili taksonomik değerlendirmeler yapmışlardır. Bunlardan Bunge (1865) *Cousinia*'yı 126 tür ve 23 seksiyona ayırmıştır. Bunge'nin verilerine dayalı yapılan çalışmalarda Boissier (1875) *Cousinia* cinsini 141 tür ve 14 seksiyon, Tscherneva (1962) yaklaşık 260 tür ve 50 seksiyon ile temsil edildiğini belirtmişlerdir. İran Florası'nda *Cousinia* cinsi 70 seksiyon ve 350'den fazla tür içermektedir (Rechinger, 1972; Rechinger, 1986).

Cousinia cinsi, "*Arctium-Cousinia*" kompleks ya da *Arctium* adı verilen monofiletik bir grup oluşturur (Susanna ve ark., 2003; Susanna ve Garcia-Jacas, 2007). Lopez-Vinyallonga ve ark. (2009)'a göre

Cousinia cinsinin "*Arctium-Cousinia*" kompleksi içinde yer alıp monofiletik olmadığını, cinsteki zayıf filogenetik çözünürlüğün muhtemelen karakter eksikliğinden ve soydaki yüksek takson sayısından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Cassini 1827'de *Cousinia* cinsini *Carduus orientalis* Adams. türüne dayandırarak tanımlamıştır. Türkiye Florası'nda *Cousinia* cinsi 6 seksiyon, 38 tür ile temsil edilip bunların 26'sı endemiktir (Davis, 1975). Türkiye Bitki Listesi'ne göre ülkemizde bulunan 39 türe yakın zamanda yayınlanan yeni bir *Cousinia* türünün eklenmesiyle birlikte Türkiye'deki tür sayısı 40'a ulaşmıştır (Tugay, 2012; Tugay ve ark., 2019).

Cousinia cinsi *Cousinia* seksiyonu 22 türle temsil edilmektedir (Huber-Morath 1975). Bu seksiyonun türleri çok yıllık olup step, kuru, kireçtaşlı, volkanik alanlarda ve kayalık yamaçlarda yetişmektedir. *Cousinia* seksiyon *Cousinia* üyeleri morfolojik olarak; derimsi yapraklar, gövde yapraklarının açıkça dekurrent, involukrum ovoid-oblongtan genişçe ovoite; fillariler 45-175, uç dikenler dik geriye kıvrımlı, çiçekler sarı yada pemmeden mora, akenler uzun çizgili, uçta trunkat ve ince küçük dişlidir (Huber-Morath 1975).

Cousinia seksiyonu türlerine ait polenler küremsiden silindiriğe yada subprolat, izopolar, apertür tipinin ise trikolpat olduğu, bunun yanında polen yüzey

süslerinin ise verrukoz-perforat olduğu tespit edilmiştir (Ahmad ve ark., 2011; Ulukuş ve Tugay, 2019a; Ulukuş ve Tugay, 2019b; Tugay ve ark., 2019). Seksiyona ait bazı türleri içeren kromozom çalışmalarında kromozom sayılarının $x=12$ ve $x=13$ olarak belirlenmiştir (Susanna ve ark., 2003; Djavidi, 2012; Tugay ve ark., 2019). Seksiyon ile ilgili yapılan anatomik çalışmalarda gövde, yaprak ve orta damar özellikleri belirlenip, özellikle orta damarın cinsin taksonomisinde önemli olduğu belirtilmiştir (Ulukuş ve Tugay, 2019a; Ulukuş ve Tugay, 2019b; Tugay ve ark., 2019; Ulukuş ve Tugay, 2020).

Bu çalışma, Türkiye'deki endemik *Cousinia decolorans* türünün anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik özelliklerinin belirlenmesiyle cins ile ilgili yapılacak olan farklı sistematik çalışmalar için kaynak sağlayacaktır.

2. Materyal ve Metot

Bitki örnekleri yayılış gösterdiği doğal alanlardan fotoğraflanmış ve toplanmıştır. Anatomik incelemeler için kullanılan bitkinin kısımları (gövde ve yapraklar) % 70'lik alkol bulunan şişeler içerisine alınmıştır. Anatomik çalışmalarda kullanılacak bitki örneklerinin gövde ve yaprakları öncelikle jilet yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Ayrılan küçük gövde ve yaprak parçaları belirli oranlardaki alkol

serilerden geçirilerek dehidrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Parafine gömme metodu uygulanmış ve Leica RM2125RT marka mikrotom kullanılarak 5-10 µm aralığındaki kalınlıklarda kesitler alınmıştır. Fastgreen ve safranin boyaları kullanılarak kesitleri alınan örnekler boyanmış ve entellan kullanılarak daimi preparat haline getirilmiştir (Johansen, 1940). Leica DM750 marka binoküler ışık mikroskobu ve Leica DFC280 kamera altında preparat fotoğrafları çekilmiştir. Palinolojik çalışmalar için çiçeklerden alınmış polen örnekleri kullanılmış ve Woodehouse (1935)'e göre preparatlar hazırlanmıştır. Polen ölçümleri için ışık mikroskobu kullanılmış ve 30 adet polen ölçümü gerçekleştirilmiştir. SEM mikroskobu kullanılarak polen ve tohumların yüzey süsleri belirlenmiştir. Polen terminolojisi için Punt ve ark. (2007)'nin çalışması kullanılmıştır. Tohum terminolojisinin belirlenmesinde Stearn (1983)'nin yaptığı çalışmadan faydalanılmıştır.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

C. decolorans türüne ait anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik çalışmalar gerçekleştirilip türe ait fotoğrafları ile birlikte detaylı özellikleri verilmiştir.

B6 Sivas: Divriği, Kuzeybatı yamaçlar, step, 1470 m, 31.07.2021, B. Atasagun-1114, D. Ulukuş & O. Tugay; (Şekil 1A-B).



Şekil 1. *Cousinia decolorans*'in A. habitat, B. kapitula görünümü

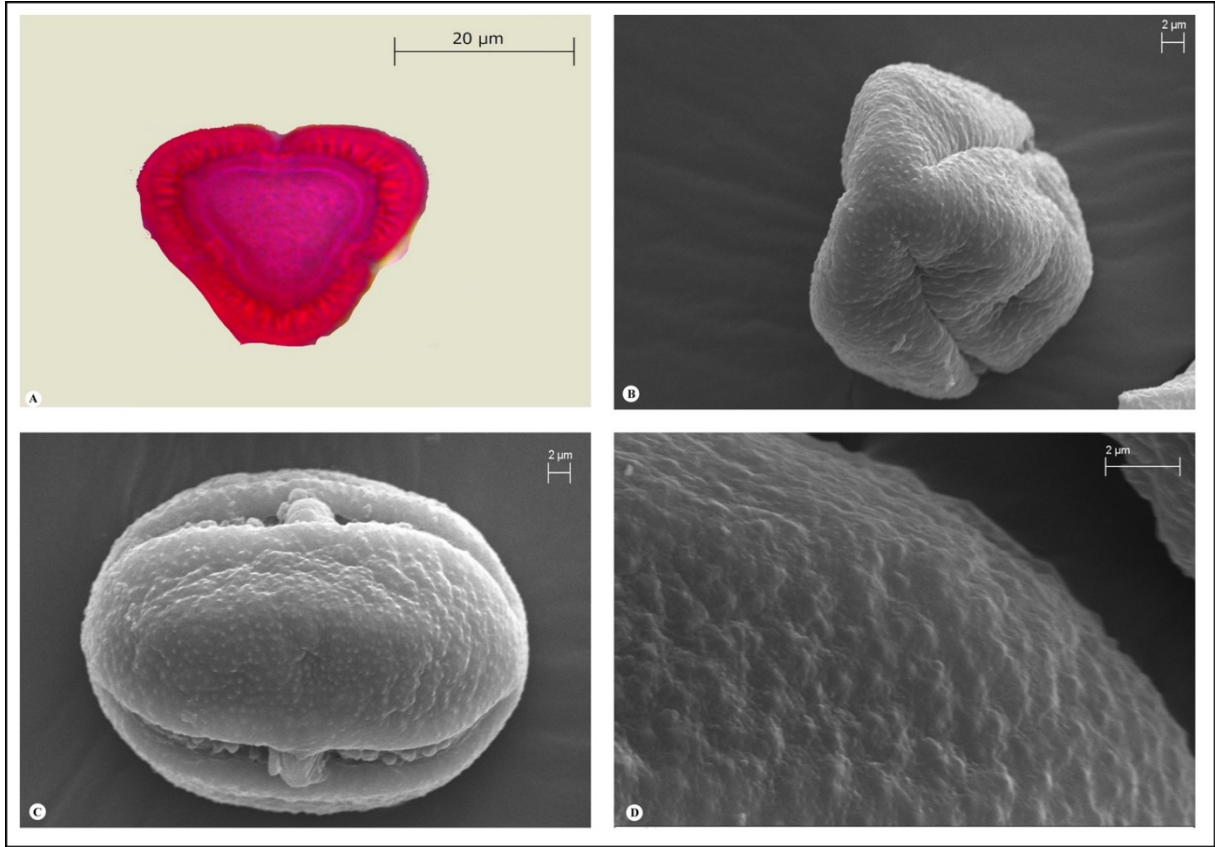
3.1. Palinolojik Bulgular

Cousinia decolorans polen taneleri radyal simetrik, izopolar, trikolporattır. Polar eksen $46.44 \pm 1.44 \mu\text{m}$, ekvatoryal eksen $33.04 \pm 1.79 \mu\text{m}$, polen şekli prolat, orta ölçektir. AMB $21.85 \pm 2.28 \mu\text{m}$, triangular (üçgensiz). Ornamentasyon verrucattır. Kolpus uzunluğu $38.9 \pm 2.28 \mu\text{m}$, kolpus genişliği $8.56 \pm 0.97 \mu\text{m}$. Por şekli oblat (Plg $7.8 \pm 0.96 \mu\text{m}$, Plt $12.07 \pm 1.18 \mu\text{m}$). Ekzin $2.99 \pm 0.78 \mu\text{m}$, intin $1.63 \pm 0.35 \mu\text{m}$ kalınlıktadır (Çizelge 1, Şekil 2A, B, C, D).

Çizelge 1. *C. decolorans*'a ait palinolojik ölçümler

	M	σ	Max. - Min.
P (μm)	46.44	1.51	49.19-43.26
E (μm)	33.04	1.79	36.38-29.08
P/E	1.41	0.07	1.56-1.26
clg (μm)	38.9	2.28	45.37-34.29
clt (μm)	8.56	0.97	10.26-6.83
plg (μm)	7.8	0.96	10.38-6.06
plt (μm)	12.07	1.18	14.44-9.4
Plg/Plt	0.65	0.08	0.91-0.51
t (μm)	31.7	2.76	36.63-27.26
L=AMB (μm)	21.85	2.28	27.02-18.72
Eksin (μm)	2.99	0.78	5.24-1.82
İntin (μm)	1.63	0.35	2.39-1.01
Polen Şekli	Prolate		
Apertür	Trikolporate		
Por şekli	Oblate		
Ornamentasyon	verrucate		
Ölçü Sınıfı (size)	Orta		

(P: Polar çap, E: Ekvatoryal çap, L (AMB): Polenin polar, görünüşünün dış sınırı, clg: Kolpus uzunluğu, clt: Kolpus, genişliği, plg: Por uzunluğu, plt: Por genişliği, t: Kolpus uçlarının birbirine olan uzaklığı)



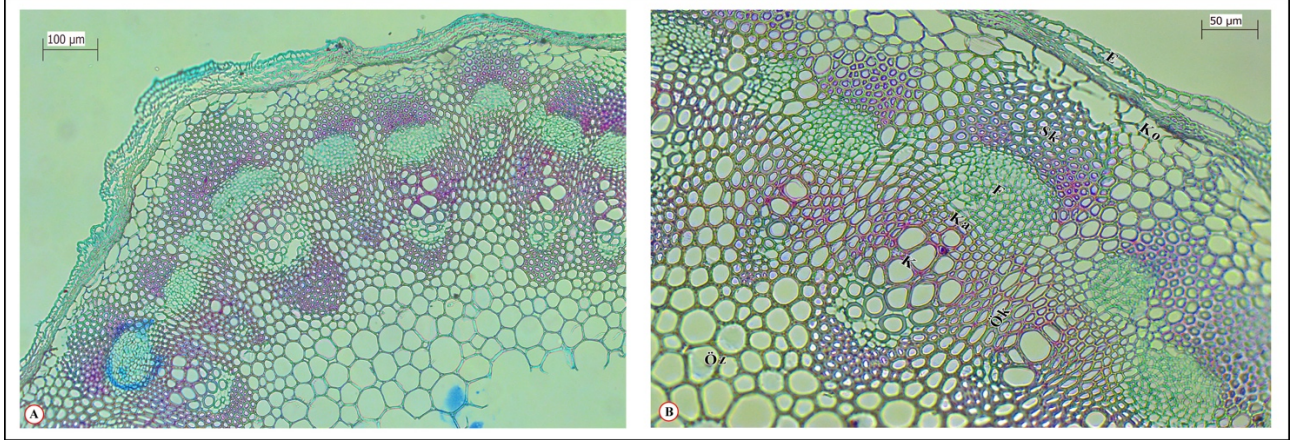
Şekil 2. *Cousinia decolorans* polen Işık ve SEM fotoğrafları A. Polar Işık B. Polar SEM C. Ekvatorial D. Ekzin Ornamentasyon Görünümü

3.2. Anatomik Bulgular

3.2.1. Gövde

Cousinia decolorans gövde enine kesitinde; dıştan içe doğru epidermis, korteks, sklerenkima, iletim demetleri ve öz bölgesi yer almaktadır. Epidermis dikdörtgen şekilli, tek sıralı, 5.83-13,55 x 5.55-16.11 µm boyutlarındadır. Epidermis hücrelerinin üzerinde kalın bir kutikula tabakası yer almaktadır. Korteks hücreleri, 7-8 sıralı, parankimatik, düzensiz, dikdörtgen ve oval

şekilli klorenkimatik ve 8-9 sıralı sklerenkimatik hücrelerden oluşmaktadır. İletim demetleri gövde eksenine paralel olarak sıralanmıştır. Floem ile ksilem arasında 3 sıralı kambiyum bulunmaktadır. En iç kısımda parankimatik yapıda beşgenimsi ve yuvarlak şekilli, 16.18-67.61 x 13.89-76.07 µm boyutlarında hücrelerden meydana gelmiş bir öz bölgesi bulunmaktadır (Şekil 3A-B).



Şekil 3. *C. decolorans*'ın gövde anatomik yapısı **A. & B.** (E: Epiderma, Ko: Kortex, Sk: Sklerenkima, F: Floem, K: Ksilem, Öz: Öz Kolları, Öz: Öz)

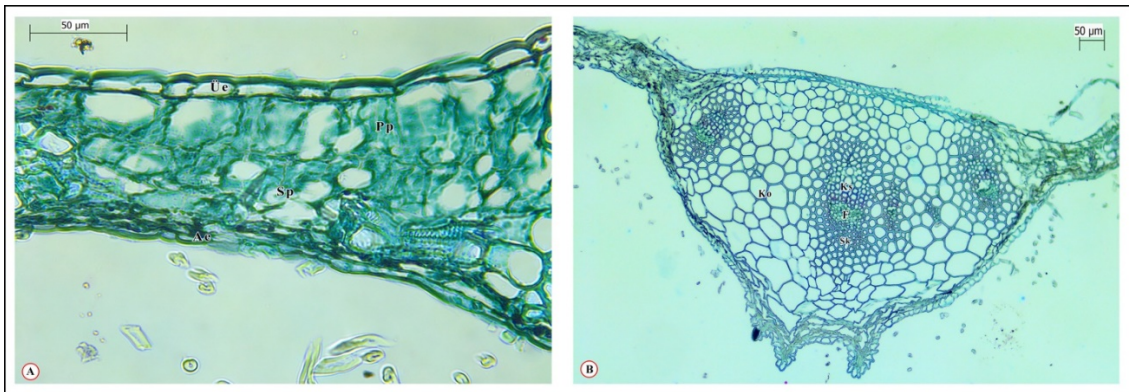
3.2.2. Lamina

Yaprak enine kesitlerinde üst ve alt yüzey tek sıralı, dikdörtgen şekilli epiderma hücreleri ile çevrelenmiştir. Yaprak bifasiyal olup, üst epidermisin altında iki sıralı, bol kloroplastlı palizat parankiması bulunmaktadır. Palizat parankimasının altında hücreleri düzensiz şekilde sıralanmış birkaç sıralı sünger parankiması yer almaktadır. Orta kısımda kollateral tipte büyük bir iletim demeti bulunmaktadır (Şekil 4A).

3.2.3. Orta Damar

Orta damar enine kesitlerde orta damar şeklinin yarı orbikular olduğu tespit

edilmiştir. Burada biri büyük, ikisi küçük olmak üzere toplam 3 adet iletim demeti bulunmaktadır. İletim demetlerinin etrafı sklerenkima ile çevrelenmiştir. Üst epidermisin altında parankima hücreleri ve kollenkima bulunmaktadır. Parankimatik hücreler beşgenimsi ve altıgenimsi hücrelerden oluşmaktadır. Floem elemanları yoğun olup küçük boyutlu hücrelerden meydana gelmiştir. Ksilem dokusu iyi gelişmiş, trake elemanları oval ve dikdörtgenimsi şekildedir (Şekil 4B).

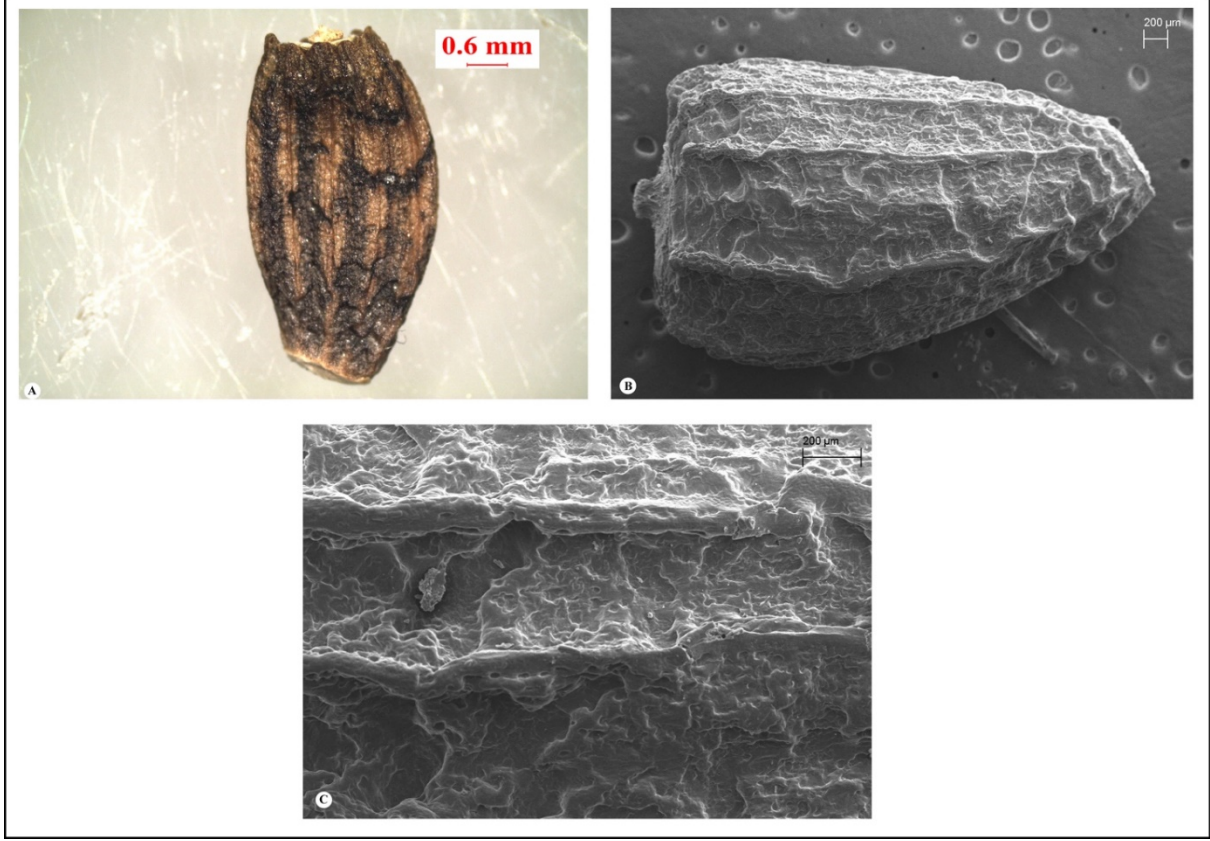


Şekil 4. *C. decolorans*'ın yaprak anatomik yapısı **A** (Üe: Üst epidermis, Pp: Palizat parankiması, Sp: Sünger parankiması, Ae: Alt epiderma **B.** Orta damar enine kesiti (Ko: Kollenkima, Sk: Sklerenkima, Fl: Floem, Ks: Ksilem).

3.3. Aken Bulgular

Akenler kahverengi, oblong şekilli, belirgin çizgili, uç kısmı küçük dişli. Boyu 4-5 mm, eni 2-3 mm. Yüzey ornemantasyonu

retipilattır. Pappus bristleri barbellat; 2.5- 3 mm. (Şekil 5A, B, C)



Şekil 5. *C. decolorans* akeninin morfolojik ve mikromorfolojik görüntüleri (A. Işık mikroskobu, B. Elektron mikroskobu (SEM), C. Tohum yüzey görünüşü (SEM)

Çalışma sonucunda elde edilen anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik bulgular literatüre göre tartışılmıştır.

Literatüre göre *Cousinia* cinsi üzerine son zamanlarda bazı anatomik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, Ulukuş ve Tugay (2019a) *Cousinia* cinsi *Cousinia* seksiyonu içerisinde yer alan *Cousinia halysensis* Hub.-Mor. türünün gövde ve yaprak anatomik özellikleri hakkında bilgi vermişlerdir. Çalışmalarında gövdenin anatomik yapısında bazı farklılıklar

gözlemlemişler bunun yanında yaprak ve orta damar özelliklerinin tür ayrımlarında önemli olacağını belirtmişlerdir. Yaprak anatomik kesitleri incelendiğinde *C. halysensis* türünün orta damar şeklinin yarı dairemsi ve iletim demeti sayısının 10 olduğu, bizim çalışmamızda da kullanılan *C. decolorans* türünün ise orta damar şeklinin de yarı dairemsi olduğu ancak iletim demeti sayısının 3 olmasıyla *C. halysensis* türünden farklı olduğu belirlenmiştir. Bu iki çalışmadaki verilere göre orta damar

özelliklerinin *Cousinia* cinsi türleri arasında önemli bir karakter olduğu belirlenmiştir.

C. iconica Hub.-Mor. türünün gövde, yaprak ve orta damar enine kesitleri incelenmiş yaprak mezofil tabakasındaki farklılıkların ve orta damardaki iletim demeti sayısının *Cousinia* türlerinin ayırımında önemli bir karakter olduğu belirtilmiştir (Ulukuş ve Tugay, 2019b).

Ulukuş ve Tugay (2019b)'ın yaptığı çalışmada *C. iconica* orta damar şeklinin yarı dairemsi bu çalışmada *C. decolorans* türünün orta damar şeklininde yarı dairemsi olduğu, ayrıca *C. iconica* türünün orta damar iletim demeti sayısı 10 iken *C. decolorans* türünde ise 3 olduğu görülmüştür.

Ulukuş ve Tugay (2020a) *C. eleonora* Hub.-Mor. ve *Cousinia humilis* Boiss. türlerinin gövde, yaprak ve orta damar özelliklerini belirleyip türler arasında karşılaştırma yapmışlardır. Çalışmalarında *C. eleonora* orta damar şeklinin dairemsiyken, bu çalışmada *C. decolorans* orta damar şekli yarı dairemsi olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında *C. eleonora* orta damar iletim sayısı 10 iken, *C. decolorans* türünde 3 olarak gözlemlenmiştir. Ulukuş ve Tugay (2020)'ın yaptığı çalışmada *C. humilis* Boiss. türünün orta damar şeklinin üçgenimsi ve iletim demeti sayısı 4 iken, bu çalışmada *C. decolorans*'ın yarı dairemsi orta damar şekline ve 3 iletim demetine sahip olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışma sonuçlarına göre *C. decolorans* türünün orta damardaki iletim demeti sayısı ve orta damar şeklinin türler arasında önemli olduğu belirlenmiş olup, elde edilen bulgular Attar ve ark. (2004), Ulukuş (2019) ile Ulukuş ve Tugay (2019a; 2019b; 2020a, 2020b)'ın yaptığı çalışma sonuçlarını desteklemektedir.

Cousinia cinsi türleri üzerine yapılan palinolojik çalışmalarda *Stenocephala* seksiyonuna ait 25 türe ait polen örnekleri Işık ve SEM mikroskobu kullanılarak palinolojik inceleme gerçekleştirilmiş, polenler prolat ve apertür tipi trikolporat olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında polen ekzin yüzey süslerinde verrukoz olduğu belirtilmiştir (Saber ve ark., 2009). Ulukuş ve Tugay (2019a) *C. halysensis* türünün polen şeklinin subprolat ve polen yüzey süsünün verrukoz olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise *C. decolorans* türü polen şekli prolat iken, yüzey süsleri bakımından *C. halysensis* türüyle aynı olduğu görülmektedir. Ulukuş ve Tugay (2019b) *C. iconica*'da subprolat polen şekli ve verrukoz-perforat yüzey süsü olduğu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise *C. decolorans* türünün hem polen şekli hemde yüzey süsü bakımından farklı olduğu görülmektedir.

Cousinia cinsi seksiyon *Cousinia* için yeni bir tür olan *C. agridaghensis* ve yakın türü olan *C. urumiensis* türünün palinolojik incelemelerinde, her iki türün polen şeklinin

subprolat ve yüzey süslerinin verrukoz-perforat olduğu belirtilmiştir (Tugay ve ark., 2019). Ancak bu çalışmada hem polen şekli hemde yüzey süsü bakımından *C. decolorans* türü *C. agridaghensis* Tugay, Ertugrul & Ulukuş ve *C. urumiensis* Bornm. türlerinden farklı palinolojik özelliklere sahiptir.

Ulukuş ve Tugay (2020a) iki endemik *Cousinia* türü (*C. eleonora* ve *C. humilis*) palinolojik incelemelerinde her iki türünde polen yüzey süslerinde verrukoz-perforatlık tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmada ise *C. decolorans* türünde polen yüzey süsünde sadece verrukatlık olduğu görülmektedir.

Yapılan palinolojik çalışmada *C. decolorans* türünün polen yüzey süsünün verrukat ve polen şeklinin suprolat olması, çalışmamızın önceki yapılan çalışmalarla tam olarak uyumlu olmadığını göstermiştir.

Yaptığımız çalışmada, *C. decolorans* tohum kabuk yüzey süsünün retipilat olduğu tespit edilmiştir. *Cousinia* cinsine ait tohum mikromorfolojik incelemelerinde ise farklı

özellikte *C. iconica* retikulat-sitriat (Ulukuş ve Tugay, 2019b), *C. agridaghensis* ve *C. urumiensis* retikulat-faveolat (Tugay ve ark., 2019), *C. boissieri* Buhse retikulat (Ulukuş, 2019) yüzey süsleriyle karşılaşılmıştır. Tohum yüzey süslerindeki bu farklılıklar cins içerisindeki türlerin ayırımında önemli bir karakter olacağını vurgulamaktadır.

Bu çalışmada, *C. decolorans* türe ait detaylı anatomik, palinolojik ve tohum özellikleri ilk kez detaylıca verilmiştir. Yapılan bu çalışmanın, cinse ait biyosistemik çalışmalar için veri sağlayacağı, ayrıca kullanışlı anatomik, palinolojik ve tohum karakterlerinin cinsin sistemik çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi'ne (Proje No: 20401134) teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

- Ahmad-Khanbeygi Z, Sheidai M, Attar F (2011). Morphometry and palynological study of genus *Cousinia* sect. *Cousinia* (Asteraceae) in Iran. *Iran J Bot* 17 (2): 158–166.
- Attar F, Ghahreman A, Mahdigholi K, Sheidai M (2004). Anatomy-taxonomy studies of the species of section *Serratuloideae* (*Cousinia*, Compositae) in Iran. *Iran J Bot* 10: 119–141.
- Boissier E (1875). *Flora Orientalis*, vol. 3. H. Georg, Geneva & Basilea (Basel), 1033 pp.
- Bunge AV (1865). Übersichtliche Zusammenstellung der arten der gattung *Cousinia* Cass. Mémoires de l'Academie Imperiale des Sciences de. *Saint Petersburg*, (ser.7): 9, 1–56.
- Davis PH (1975). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* Vol.5, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.

- Djamali M, Baumel A, Brewer S, Jackson ST, Kadereit JW, Lopez-Vinyallonga S, Mehregan I, Shabaniyan E, Simakova A (2012). Ecological implications of *Cousinia* Cass. (Asteraceae) persistence through the last two glacial-interglacial cycles in the continental Middle East for the Irano-Turanian flora. *Rev Palaeobot Palynol* 172: 10–20.
- Djavadi SB (2012). New chromosome counts in *Cousinia* (Asteraceae, Cardueae) sections *Cynaroideae* and *Stenocephalae* from Iran. *Iran J Bot* 18: 86–93.
- Frodin DG (2004). History and concepts of big plant genera. *Taxon* 53(3): 753–766.
- Huber-Morath A (1975). *Cousinia* Cass., Davis PH (Ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* Vol 5: pp. 329–353. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Johansen DA (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New-York.
- Knapp HD (1987). On the distribution of the genus *Cousinia* (Compositae). *Plant Syst Evol* 155(1-4): 15–25.
- Lopez-Vinyallonga S, Mehregan I, Garcia-Jacas N, Tscherneva O, Susanna A, Kadereit JW (2009). Phylogeny and evolution of the *Arctium-Cousinia* complex (Compositae, Cardueae-Carduinae). *Taxon* 58: 153–171.
- Punt W, Hoen P, Blackmore S, Nilsson S, Le Thomas A (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Rev Palaeobot Palyno* (143): 1–81.
- Rechinger KH (1972). *Compositae-Cynareae I: Cousinia.*, Rechinger K.H. (Ed.) *Flora Iranica*. 90:1–329. Graz.
- Rechinger KH (1986). *Cousinia*: morphology, taxonomy, distribution and phytogeographical implication. *Proc R Soc Edinb* 89 B: 45–58.
- Saber A, Attar F, Djavadi S (2009). Studies of pollen grains in the Sect. *Stenocephalae* (*Cousinia* Cass.- Asteraceae) in Iran. *Iran J Bot* 15: 114–128.
- Stearn WT (1983). *Botanical latin*. David & Charles, London, 566 pp.
- Susanna A, Garcia-Jacas N, Vilatersana R, Garnatje T (2003a). Generic boundaries and evolution of characters in the *Arctium* group: A nuclear and chloroplast DNA analysis. *Collect Bot* (Barcelona) 26: 101–118.
- Susanna A, Garcia-Jacas N (2007). Tribe *Cardueae*. In Kubitzki, K. (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, Springer. Verlag Berlin Heidelberg. 8 pp. 123–146.
- Tscherneva O (1962). *Cousinia* Cass. In: Schischkin, B.K. (Ed.) *Flora of the USSR*, vol. 27. Akademiya Nauk, Leningrad, pp. 108–357.
- Tugay O (2012). *Cousinia*. (Editörler A. Güner, S. Aslan, T. Ekim, M. Vural MT, Babaç. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Tugay O, Ulukoş D, Ertuğrul K, Uysal T, Demirelma H, Dural H (2019). A new species of *Cousinia* (sect. *Cousinia*, Asteraceae) from the Ağrı Mountain (eastern Turkey): evidence from morphology, karyology and anatomy. *Phytotaxa* 427(4): 259–269.
- Ulukoş D, Tugay O (2019a). Endemik *Cousinia halysensis* Hub.-Mor. (Papatyagiller/Asteraceae) türünün anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik yönden incelenmesi. *Bağbahçe Bilim Dergisi* 6(1): 59–65.

- Ulukuş D, Tugay O (2019b). Micromorphological, palynological and anatomical properties of endemic *Cousinia iconica* Hub.-Mor. (Sect. *Cousinia* /Asteraceae). *Bağbahçe Bilim Dergisi* 6(2): 58–63.
- Ulukuş D (2019). Anatomical, palynological and achene micromorphological characteristics of *Cousinia boissieri* Buhse (Sect. *Leiocaules*, Asteraceae) growing in Turkey. *Biodicon* 12 (2): 119–125.
- Ulukuş D, Tugay O (2020a). Morphology, anatomy and palynology of two endemic *Cousinia* Cass. species (Sect. *Cousinia*, Asteraceae) and their taxonomic implications. *Pak J Bot* 52(1): 297–304.
- Ulukuş D, Tugay O (2020b). Türkiye için endemik bir bitki olan *Cousinia foliosa* Boiss. & Balansa (Asteraceae) üzerine anatomik ve palinolojik çalışmalar. *S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi* 46(2), 118–125.
- Wodehouse RP (1935). *Pollen Grains*. Mc. Graw-Hill Book Company Inc., New York and London.



Investigation of Optoelectronic Properties of Organic Semiconductor Tetracyanoquinodimethane Based Heterostructures

Burcu AVCI¹, Ali Akbar HUSSAINI², Mehmet Okan ERDAL³, Murat YILDIRIM^{4*}

*Corresponding Author: muratyildirim@selcuk.edu.tr

¹ Selcuk University, Faculty of Science, Department of Biotechnology, KONYA
Orcid No: 0000-0003-4455-5684 / burcuyalcin16@gmail.com

² Selcuk University, Faculty of Science, Department of Biotechnology, KONYA
Orcid No: 0000-0002-7128-9994 / aliakbar.hussaini.1994@gmail.com

³ Necmettin Erbakan University, Meram Vocational School, 42090, KONYA
Orcid No: 0000-0003-4469-3438 / moerdal@erbakan.edu.tr

⁴ Selcuk University, Faculty of Science, Department of Biotechnology, KONYA
Orcid No: 0000-0002-4541-3752 / muratyildirim@selcuk.edu.tr

Abstract: Recently, interfacial layer such as metal oxide, insulator and polymer have been used by scientists between the metal and semiconductor to increase the stability of the metal-semiconductor heterojunctions. These materials have been varied according to their usage aims. In this study, graphene nanoribbons (GNR) and 7,7,8,8 Tetracyanoquinodimethane (TCNQ, C₁₂H₄N₄) layer has been used as interfacial layer between the metal and semiconductor for photodiode applications. The TCNQ layer collects and extracts more electrons in the interface of the device and is used as electron acceptor material for organic solar cells. Herein, we fabricated Al/p-Si/Al, Al/p-Si/TCNQ/Al and Al/p-Si/TCNQ:GNR/Al heterojunctions by physical vapor deposition technique. *I-V* measurements has been employed under dark and various light illumination conditions to show dielectric properties of the fabricated heterojunctions. From current-voltage characteristics, we calculated the electronic parameters such as ideality factor, barrier heights, series resistances and rise times. It can be concluded from overall results that TCNQ and TCNQ:GNR layers had a major impact on quality and can be considered as quite proper materials for optoelectronic applications.

Keywords: Al/p-Si/TCNQ:GNR/Al, Heterostructure, Optoelectronic, Photodiode

Organik Yarıiletken Tetrasiyanoquinodimetan Tabanlı Heteroyapıların Optoelektronik Özelliklerinin Araştırılması

Öz: Son yıllarda bilim insanları metal-yarıiletken heteroeklemlerinin dayanıklılığını arttırmak amacıyla metal ile yarıiletken arasında metal oksit, yalıtkan veya da polimer tabakalar eklemektedirler. Bu malzemeler amaca göre değişiklik göstermektedir. Bu çalışma kapsamında, fotodiyot uygulamaları için metal ve yarı iletken arasında ara yüzey olarak grafen nanoribbon (GNR) ve 7,7,8,8 Tetrasiyanoquinodimetan-(Tetracyanoquinodimethane TCNQ, C₁₂H₄N₄) katmanı kullanılmıştır. TCNQ katmanı, cihazın arayüzünde daha fazla elektron toplar ve çıkarır ve organik güneş pillerinde elektron alıcı malzeme olarak kullanılır. Daha sonra fiziksel buhar biriktirme yöntemiyle Al/p-Si/Al, Al/p-Si/TCNQ/Al ve Al/p-Si/TCNQ:GNR/Al heteroeklemleri elde edilmiştir. Elektriksel karakterizasyon kapsamında Akım-voltaj ölçümleri hem karanlık ortamda hemde farklı aydınlatma değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Akım-voltaj karakteristiklerinden, idealite faktörü, bariyer yüksekliği, seri direnç ve yükselme zamanı gibi elektronik parametreler hesaplanmıştır. Sonuç olarak, TCNQ ve TCNQ:GNR katmanlarının kalite üzerinde büyük bir etkisi olduğu ve optoelektronik uygulamalar için oldukça uygun malzemeler olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Al/p-Si/TCNQ:GNR/Al, Heteroeklem, Optoelektronik, Fotodiyot

1. Introduction

Metal-Semiconductor (MS) contacts are called Schottky diodes after its inventor W. Schottky (Wager et al., 2008). Schottky barrier diodes (SBDs) are metal-semiconductor (MS) contacts that are extensively used in semiconductor manufacturing (Berk et al., 2021), temperature-sensing (Zeghdar et al., 2020) and solar cells applications (Ramadan & Martín-Palma, 2020). On the other hand, metal-semiconductor heterojunctions have a wide range of usages in solar cells, rectifiers, capacitors, photodetectors and transistors fabrications (Munikrishana Reddy et al., 2013).

SBDs have shown high electric field and breakdown voltages (Rouger & Maréchal, 2019). In addition, Schottky diodes have very high switching speed and temperature stability compared to p-n junction diode (Kyoung et al., 2016). Because the operation of Schottky diodes is based on carriers (Anthopoulos et al., 2006). If the interface layer thickness (d_i) between metal and semiconductor increases above a few hundred Angstroms (Å), then these structures are termed as metal/insulator-oxide-polymer/semiconductor (MIS, MOS, MPS) diodes rather than Schottky diodes (Gökçen et al., 2012; Yücedag et al., 2014). In recent years, polymer interface materials have been used to increase the properties of

these devices (Srivastava & Chakrabarti, 2015; Tozlu & Mutlu, 2016).

There has been rising amount of researches to enhance the electrical properties of diodes by inserting organics (Erdal et al., 2021; Eroğlu et al., 2020; Meftah et al., 2020), metal oxides (Yenel et al., 2021) and nanocrystals materials (Kocyiğit et al., 2021; Koçyiğit et al., 2021; Yıldırım et al., 2020). Recently, graphene (Gr) has attracted numerous attention due to its properties in optoelectronic devices. Moreover, graphene nanoribbons (GNR) seems to be advantageous than graphene due its band gap, and applicable in diodes and transistors manufacture (Sato, 2017).

Ye et al. (2011) have reported the first synthesis of GNR doped heterojunction using as light-emitting diodes (LEDs). The obtained device can emit light with 380 nm, 523 nm and 705 nm wavelengths. Furthermore, Shamsir et al. (2021) have also modified p-n junction diode based on GNR. In another research, Erdal et al. (2019) have used GNR and MWCNT layers on *p*-Si successfully which can be applied in various industries potentially. Double gate GNR diode composed by Kargar and Lee (2009), have shown $\sim 2 \times 10^7$ rectification ratio at 0.2 V bias voltage. Rahmani et al. (2013) have explored application of bilayer GNR doped SBDs. Tataroğlu et al. (2021) have fabricated graphene-PVP/Au/*n*-Si diode via spin-coating. Gr-PVP addition to the

obtained device have shown incredible performance which can be applied instead of the insulator layer. In another study, Wang et al. (2020) have coated graphene oxide (GO) on graphene-silicon heterojunction. GO in obtained photodetector device have exhibited great effects by suppressing the dark current and increasing the photocurrent 2.73 times and responsivity to 0.65 A/W under 633 nm illumination. Moreover, Orhan et al. (2020) have synthesized CuO–Graphene/*p*-Si device by spin-coating and investigated the impact of gamma irradiation on it. In another research by Karadaş et al. (2021) 1%, 3%, 5%, 7%, and 10% graphene have been doped in PVA then coated on *n*-Si. Among them, 7% Gr doped-PVA interlayer have demonstrated best rectifying rate, with low series resistance.

Many Schottky diodes are prepared and characterized using metals, inorganic semiconductors and organic conductive polymers. The electrical and photoelectric properties of polymeric and non-polymeric organic compounds are widely investigated. It was found that the heterostructures containing non-polymeric and polymeric organic thin films have considerable rectifying properties. Al/PVC–TCNQ:ZnO/*p*-Si device synthesized by Erdal et al. (2021) demonstrated a linear photoconductivity, and photoresponsivity of the obtained device has been improved by ZnO doping significantly. In another study,

Taşçıoğlu et al. (2017) have fabricated Au/P3HT:PCBM:F4-TCNQ/*n*-Si Schottky barrier diode (SBDs) via spin-coating and investigated electrical and dielectric properties between 10 kHz–2 MHz. Çimen et al. (2018) have investigated the concentration of TCNQ on Au/P3HT:F4-TCNQ/*n*-Si on SBDs which improves the quality of devices. Moreover, Mun et al. (2020) have successfully fabricated F4-TCNQ doped stretchable semiconductor showing high mobility and stability.

Within the scope of this study, Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterojunctions have been fabricated successfully. The effects of TCNQ and TCNQ:GNR layers to the interlayer of the metal-semiconductor heterojunction structure have been investigated. The devices have been characterized by taking temperature-dependent *I-V* measurements for determination of dielectric constants. The aim of the project is basically to obtain the TCNQ:GNR heterojunction structure and to determine the photosensitivity properties depending on the illumination intensity.

2. Material and Method

The *p*-type Si wafer used as substrate was cut to 1.5 cm² pieces, then they were cleaned by H₂O₂:H₂O:HCl, H₂O₂:H₂O:NH₄OH, isopropanol and acetone solutions in an ultrasonic bath and dried by

nitrogen subsequently. Moreover, in order to remove impurities, Si pieces were steeped into HF:H₂O (1:1) solution. The wafer owned perfect crystalline orientation and $7.5 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$ carrier concentration.

Ohmic contact was created on the back surface of the Si pieces by evaporating pure Al (99.999%) at 8×10^{-6} torr pressure in PVD. Si substrates with 150 nm thickness of Al achieved in PVD was dealt with 450 °C temperature for 3 minutes. TCNQ and TCNQ:GNR solutions were coated on Si wafer via spin-coating. Spin-coating has been performed in 1500 rpm for 45 s using Fytronix SC-500 spin coater. After coating, doped and undoped Si substrates were put into PVD for Al evaporation via hole array mask. The hole radius was determined as $7.85 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$. The hole radius was determined as $7.85 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$ and 150 nm of thickness. This evaporation was created in same pressure. Obtained heterostructures were analyzed via Fytronix FY-7000 Electronic Device characterization system for the $I-V$ and $I-T$ measurements. The measurement temperatures were changed between 50–400 K by 50 K steps. Schematic diagrams of fabricated heterojunctions are given in Figure 1.

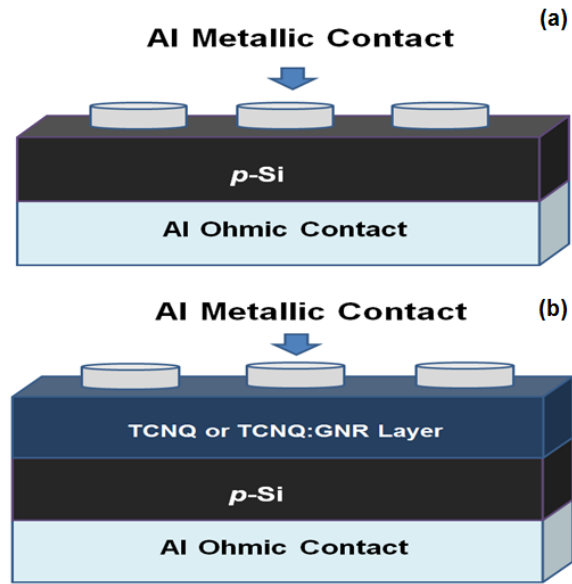


Figure 1. Schematic diagrams of (a) Al/*p*-Si/Al and (b) Al/*p*-Si/TCNQ/Al or Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures.

3. Result and Discussion

3.1. Electrical characteristics of the fabricated photodiodes

$I-V$ characteristics of the Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures have been shown in Fig. 2 under various light power intensities. Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al devices exhibited increasing current profile in the forward bias region with increasing light power intensity. Furthermore, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures can be considered as two-lead phototransistors. In as much as, they have been exhibiting a phototransistor behavior and increasing base current with increasing light power intensity and staying constant with increasing voltage in the forward bias region. The phototransistors usually can be grown on the SiO₂/Si surface

as FET structure or PNP structure as BJT on a one substrate and they are illuminated for switching (Kim et al., 2017; Kostov et al., 2013; Shao et al., 2019; Xie et al., 2020). In this study, we used normal Schottky type photodetector with *n*-type TCNQ and TCNQ:GNR interlayers. The *n*-type TCNQ and TCNQ:GNR layers can absorb the light and emit electrons to the medium

significantly. While the photodiodes or photodetectors work in the reverse biases, the phototransistors run in the forward bias region. We have both photodiode behavior in reverse biases and phototransistor behavior in the forward bias region. The threshold values of the fabricated device were calculated from these graphs and discussed broadly.

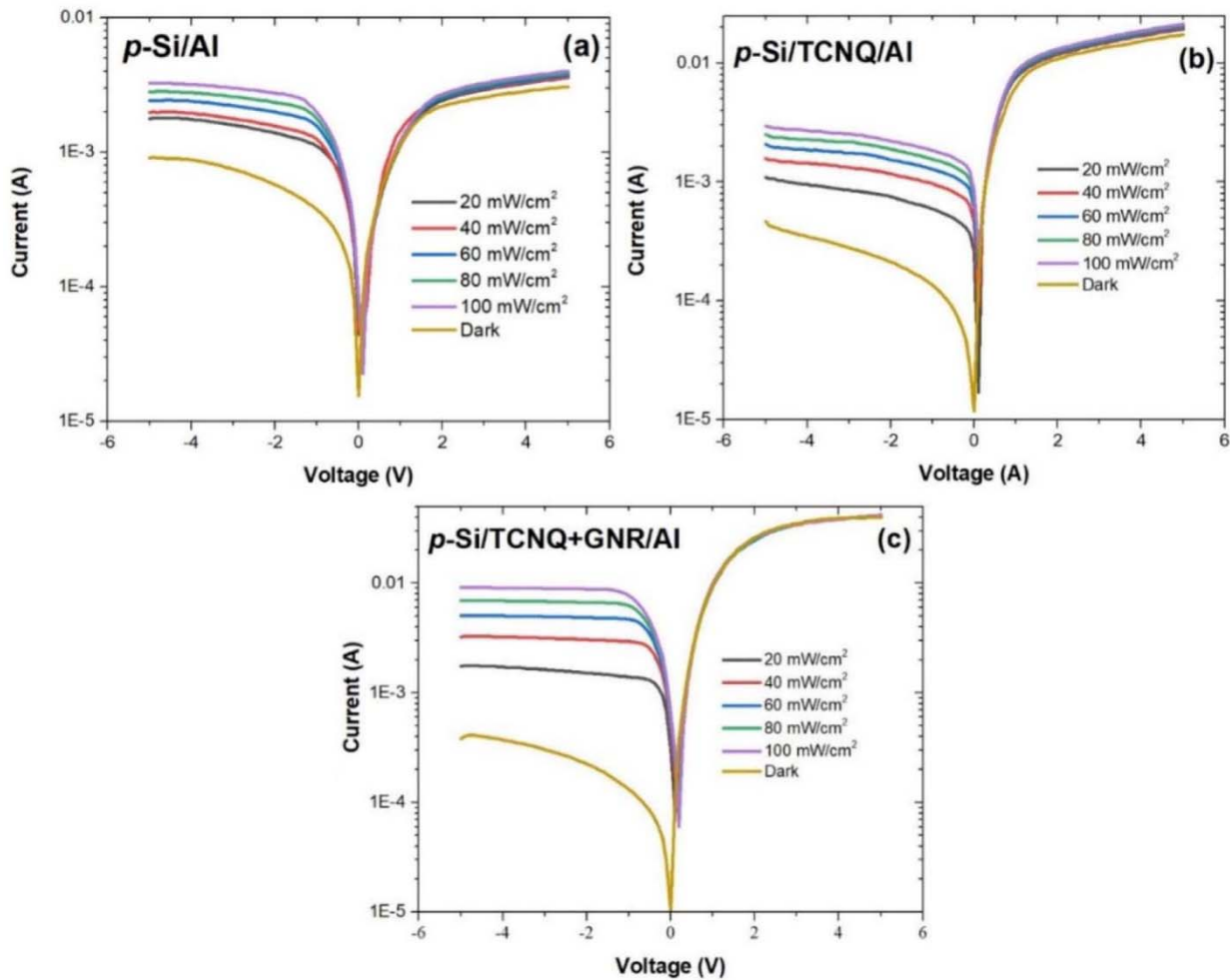


Figure 2. $\ln I$ - V plots of the (a) Al/*p*-Si/Al, (b) Al/*p*-Si/TCNQ/Al and (c) Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures.

$\ln I$ - V plots are used generally to calculate ideality factor, barrier height and series resistance of the metal semiconductor devices by thermionic emission theory, Norde and Cheung methods (Kocyigit et al.,

2019). According to thermionic emission theory, while the slope of the second region at the forward bias $\ln I$ - V plot provides to calculate the ideality factor, y-intercept of the plot helps calculate barrier height value

(Tataroğlu et al., 2021). Fig. 2(a), 2(b) and 2(c) show the $\ln I-V$ plots of the Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures under dark and 100 mW/cm² light power intensity, respectively. The changes of the current in the reverse bias regions can clearly be seen in given graphs. Obtained devices exhibited increasing photocurrent profile in the reverse bias as well as forward bias regions. This result demonstrates the photodiode behavior of the fabricated devices with phototransistor behaviors (Özmen et al., 2019). The ideality factor, saturation current and barrier height values were calculated and listed in Table 1 according to thermionic emission theory for dark condition. The ideality factor values of the Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures were determined as 2.56, 2.07 and 2.20, and the barrier height values were calculated as 3.76 eV, 1.99 eV and 2.45 eV, respectively. The high ideality factor values at the Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al devices can be attributed to barrier

inhomogeneity and interfacial TCNQ and TCNQ:GNR layers as well as series resistance rather than more than unity (Cifci et al., 2018; Kacus et al., 2020). Current transient ($I-t$) measurements of the Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al devices have been shown in Fig. 3(a), 3(b) and 3(c), respectively. The currents of the fabricated devices suddenly increased when the light is applied for all various light power intensity values, and decreased immediately when it is off. This result accentuated that the fabricated devices have good responsivity to the light illumination (İlhan et al., 2021). Moreover, the current increased almost linearly on the all devices with increasing light power intensity and maximum current was obtained for 100 mW/cm² values. The rise times of the devices were obtained as 45.08 ms, 46.12 ms and 46.55 ms for the Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al devices, respectively. These results can be indicated to good response time according to literature (Hu et al., 2021).

Table 1. Various diode parameters for the Al/*p*-Si/Al, Al/*p*-Si/TCNQ/Al and Al/*p*-Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures.

Interface Type	n ($I-V$)	n Cheung	Φ_b ($I-V$) (eV)	Φ_b Cheung (eV)	R_s Cheung (Ω ($H(I)$))	R_s Cheung (Ω ($d\ln(I)$))
Undoped	2.56	3.76	0.68	0.56	180	203
TCNQ	2.07	1.99	0.82	0.77	2950	1345
TCNQ:GNR	2.20	2.45	0.75	0.61	2260	1012

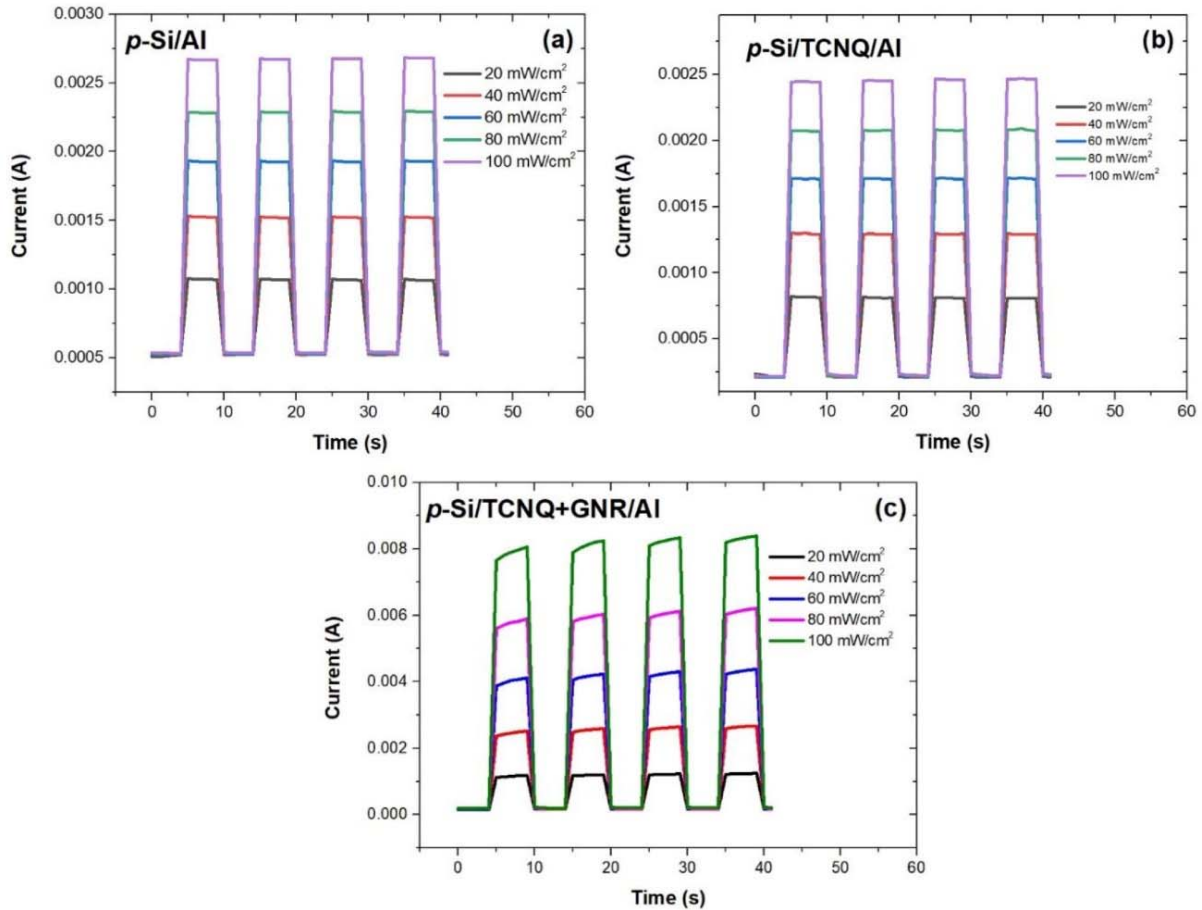


Figure 3. $I-t$ graphs of the (a) Al/ p -Si/Al, (b) Al/ p -Si/TCNQ/Al and (c) Al/ p -Si/TCNQ:GNR/Al heterostructures.

Current transient ($I-t$) measurements of the Al/ p -Si/Al, Al/ p -Si/TCNQ/Al and Al/ p -Si/TCNQ:GNR/Al devices have been shown in Fig. 3(a), 3(b) and 3(c), respectively. The currents of the fabricated devices suddenly increased when the light is applied for all various light power intensity values, and decreased immediately when it is off. This result accentuated that the fabricated devices have good responsivity to the light illumination (İlhan et al., 2021). Moreover, the current increased almost linearly on the all devices with increasing light power intensity and maximum current was obtained for 100 mW/cm² values. The

rise times of the devices were obtained as 45.08 ms, 46.12 ms and 46.55 ms for the Al/ p -Si/Al, Al/ p -Si/TCNQ/Al and Al/ p -Si/TCNQ:GNR/Al devices, respectively. These results can be indicated to good response time according to literature (Hu et al., 2021).

4. Conclusion

TCNQ and TCNQ:GNR layers on p -Si substrate have been fabricated successfully. The electrical characterization of the devices was performed by $I-V$ measurements under dark and various light power intensities. From current-voltage

characteristics, the electronic parameters such as ideality factors, barrier heights, series resistances and rise times were calculated. The fabricated devices exhibited considerable responsivity and specific detectivity. It can be concluded from overall results that TCNQ and TCNQ:GNR layers had a major impact on quality and can be

considered as quite proper materials for optoelectronic applications.

Acknowledgements

This work is a part of the M.Sc. thesis preparing by B. Avcı. This work is supported by Selcuk University BAP office with the research project number 20211024.

References

- Anthopoulos, TD, Singh B, Marjanovic N, Sariciftci NS, Montaigne Ramil A., Sitter H, Cölle M., De Leeuw DM (2006). High performance n -channel organic field-effect transistors and ring oscillators based on C60 fullerene films. *Applied Physics Letters* 89(21): 7–10.
- Berk N, Seymen H, Orak I, Karataş Ş (2021). The electrical characteristics of metal–semiconductor hetero-structures with graphene oxide and perylenetetra-carboxylic dianhydride interface. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 32(13): 17500–17511.
- Cıfci OS, Bakir M, Meyer JL, Kocyigit A (2018). Morphological and electrical properties of ATSP/p-Si photodiode. *Materials Science in Semiconductor Processing* 74: 175–182.
- Çimen A, Şağban HM, Özdemir T, Özmen ÖT (2018). F4-TCNQ Concentration dependent capacitance-voltage (C-V) and conductivity-voltage (G/w-V) characteristics of the Au/P3HT:F4-TCNQ/N-Si (MPS) schottky barrier diodes. *International Journal of Engineering Science Invention*, 7(July), 17–25.
- Erdal, MO, Koyuncu M, Doğan K, Öztürk T, Kocyigit A, Yıldırım M (2021). The modification of the characteristics of ZnO nanofibers by TCNQ doping content. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 32(13) 17220–17229.
- Erdal MO, Yıldırım M, Kocyigit A (2019). A comparison of the electrical characteristics of TiO₂/p-Si/Ag, GNR-TiO₂/p-Si/Ag and MWCNT-TiO₂/p-Si/Ag photodiodes. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 30(14): 13617–13626.
- Eroğlu A, Demirezen S, Azizian-Kalandaragh Y, Altındal Ş (2020). A comparative study on the electrical properties and conduction mechanisms of Au/n-Si Schottky diodes with/without an organic interlayer. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 31(17): 14466–14477.
- Gökçen M, Altuntaş H, Altındal Ş, Özçelik S (2012). Frequency and voltage dependence of negative capacitance in Au/SiO₂/n-GaAs structures. *Materials Science in Semiconductor Processing* 15(1): 41–46.
- Hu X, Li X, Li G, Ji T, Ai F, Wu J, Ha E, Hu J (2021). Recent progress of methods to enhance photovoltaic effect for self-powered heterojunction photodetectors and their applications in inorganic low-dimensional structures. In *Advanced Functional Materials* (p. 2011284). John Wiley and Sons Inc.

- İlhan M, Koç MM, Coşkun B, Erkovan M, Yakuphanoglu F (2021). Cd dopant effect on structural and optoelectronic properties of TiO₂ solar detectors. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 32(2): 2346–2365.
- Kacus H, Sahin Y, Aydogan S, Incekara U, Yilmaz M (2020). Co/aniline blue/silicon sandwich hybrid heterojunction for photodiode and low-temperature applications. *Journal of Sandwich Structures & Materials* 109963622090994.
- Karadaş S, Yerişkin SA, Balbaşı M, Azizian-Kalandaragh Y (2021). Complex dielectric, complex electric modulus, and electrical conductivity in Al/(Graphene-PVA)/p-Si (metal-polymer-semiconductor) structures. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 148(February 2020).
- Kargar A, Lee C (2009). Graphene nanoribbon schottky diodes using asymmetric contacts. *2009 9th IEEE Conference on Nanotechnology, IEEE NANO 2009*, 8: 243–245.
- Kim MS, Lee GJ, Kim HM, Song YM (2017). Parametric optimization of lateral NIPIN phototransistors for flexible image sensors. *Sensors (Switzerland)* 17(8): 1774.
- Koçyiğit A, Erdal MO, Ozel F, Yıldırım M (2021). Photodiode behaviors of the AgSbS₂ nanocrystals in a Schottky structure. *Nanotechnology* 32(38): 385204.
- Koçyiğit A, Sarılmaz A, Öztürk T, Ozel F, Murat Y (2021). *The Au/CuNiCoS₄/p-Si photodiode : Electrical and Morphological Characterization* 0–25.
- Koçyiğit A, Yıldırım M, Sarılmaz A, Ozel F (2019). The Au/Cu₂WSe₄/p-Si photodiode: Electrical and morphological characterization. *Journal of Alloys and Compounds* 780: 186–192.
- Kostov P, Gaberl W, Zimmermann H (2013). High-speed bipolar phototransistors in a 180 nm CMOS process. *Optics and Laser Technology* 46(1): 6–13.
- Kyoung S, Jung ES, Sung MY (2016). Post-annealing processes to improve inhomogeneity of Schottky barrier height in Ti/Al 4H-SiC Schottky barrier diode. *Microelectronic Engineering* 154: 69–73.
- Meftah SE, Benhaliliba M, Kaleli M, Benouis CE, Yavru CA, Bayram AB (2020). Optical and electrical characterization of thin film MSP heterojunction based on organic material Al/p-Si/P3HT/Ag. *Physica B: Condensed Matter* 593(April), 412238.
- Mun J, Kang J, Zheng Y, Luo S, Wu Y, Gong H, Lai JC, Wu HC, Xue G, Tok JBH, Bao Z (2020). F4-TCNQ as an additive to impart stretchable semiconductors with high mobility and stability. *Advanced Electronic Materials* 6(6): 1–9.
- Munikrishana Reddy Y, Nagaraj MK, Siva Pratap Reddy M, Lee JH, Rajagopal Reddy V (2013). Temperature-dependent current-voltage (I-V) and capacitance-voltage (C-V) characteristics of Ni/Cu/n-InP schottky barrier diodes. *Brazilian Journal of Physics* 43(1–2): 13–21.
- Orhan Z, Cinan E, Çaldıran Z, Kurucu Y, Daş E (2020). Synthesis of CuO–graphene nanocomposite material and the effect of gamma radiation on CuO–graphene/p-Si junction diode. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 31(15): 12715–12724.
- Özmen A, Aydogan S, Yilmaz M. (2019). Fabrication of spray derived nanostructured n-ZnO/p-Si heterojunction diode and investigation of its response to dark and light. *Ceramics International*.

- Rahmani M, Ismail R, Ahmadi MT, Kiani MJ, Saeidmanesh M, Karimi FAH, Akbari E, Rahmani K (2013). The effect of bilayer graphene nanoribbon geometry on schottky-barrier diode performance. *Journal of Nanomaterials*, 2013.
- Ramadan R, Martín-Palma RJ (2020). *Electrical Characterization of MIS Schottky Barrier Diodes Based on Nanostructured Porous Silicon and Silver Nanoparticles with Applications in Solar Cells*.
- Rouger N, Maréchal A (2019). Design of diamond power devices: Application to Schottky barrier diodes. *Energies* 12(12).
- Sato S (2017). Application of graphene to electronic devices. *AM-FPD 2017 - 24th International Workshop on Active-Matrix Flatpanel Displays and Devices: TFT Technologies and FPD Materials, Proceedings*, 90–93.
- Shamsir S, Parvin Poly L, Chakraborty R, Subrina S (2021). Current-voltage model of a graphene nanoribbon p-n junction and Schottky junction diode. *IET Circuits Devices and Systems*.
- Shao Z, Jiang T, Zhang X, Zhang X, Wu X, Xia F, Xiong S, Lee ST, Jie J (2019). Memory phototransistors based on exponential-association photoelectric conversion law. *Nature Communications* 10(1): 1–10.
- Srivastava A, Chakrabarti P (2015). An organic Schottky diode (OSD) based on a-silicon/polycarbazole contact. *Synthetic Metals* 207: 96–101.
- Taşçıoğlu I, Özmen T, Şağban HM, Yağlıoğlu E, Altındal. (2017). Frequency dependent electrical and dielectric properties of Au/P3HT:PCBM:F4-TCNQ/n-Si schottky barrier diode. *Journal of Electronic Materials* 46(4): 2379–2386.
- Tataroğlu A, Altındal Ş, Azizian-Kalandaragh Y (2021). Electrical characterization of Au/n-Si (MS) diode with and without graphene-polyvinylpyrrolidone (Gr-PVP) interface layer. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 32(3): 3451–3459.
- Tozlu C, Mutlu A (2016). Poly(melamine-co-formaldehyde) methylated effect on the interface states of metal/polymer/p-Si Schottky barrier diode. *Synthetic Metals* 211: 99–106.
- Wager JF, Keszler DA, Presley RE (2008). Transparent electronics. *Transparent Electronics* 1–212.
- Wang Y, Yang S, Lambada DR, Shafique S (2020). A graphene-silicon Schottky photodetector with graphene oxide interlayer. *Sensors and Actuators A: Physical* 314: 112232.
- Xie C, Liu CK, Loi HL, Yan F (2020). Perovskite-based phototransistors and hybrid photodetectors. In *Advanced Functional Materials* 30(20): 1903907).
- Ye Y, Gan L, Dai L, Meng H, Wei F, Dai Y, Shi Z, Yu B, Guo X, Qin G (2011). Multicolor graphene nanoribbon/semiconductor nanowire heterojunction light-emitting diodes. *Journal of Materials Chemistry* 21(32): 11760–11763.
- Yenel E, Torlak Y, Kocyigit A, Erden İ, Kuş M, Yıldırım M (2021). W- and Mo-based polyoxometalates (POM) as interlayer in Al/n-Si photodiodes. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 32(9): 12094–12110.

- Yıldırım M, Kocyigit A, Sarilmaz A, Ozel SS, Kus M, Ozel F (2020). Ternary CuCo₂S₄ Thiospinel nanocrystal-coated photodiode with improved photoresponsivity and acceptance angles for optoelectronic applications. *Journal of Electronic Materials* 49(2): 949–958.
- Yücedag I, Kaya A, Altındal E, Uslu I (2014). Electrical and dielectric properties and intersection behavior of G/ω - V plots for Al/Co-PVA/p-Si (MPS) structures at temperatures below room temperature. *Journal of the Korean Physical Society* 65(12): 2082–2089.
- Zeghdar K, Dehimi L, Pezzimenti F, Megherbi ML, Della Corte FG (2020). Analysis of the electrical characteristics of Mo/4H-SiC schottky barrier diodes for temperature-sensing applications. *Journal of Electronic Materials* 49(2): 1322–1329.

Structural and Elastic Properties of Pd₂CrPb Heusler Compound

Ziya MERDAN¹, F. Irmak BALMUMCU^{2*}

*Corresponding Author: fadime.irmakbalmumcu@gazi.edu.tr

¹ Gazi University, Science Faculty, Department of Physics, ANKARA
Orcid No: 0000-0001-8708-8583/ziyamerdan@gazi.edu.tr

² Gazi University, Science Faculty, Department of Physics, ANKARA
Orcid No: 0000-0001-7011-110X/fadime.irmakbalmumcu@gazi.edu.tr

Abstract: Electronic, structural and elastic properties of Pd₂CrPb compound were examined with Density Functional Theory (DFT). The lattice constant in state of balance and the total magnetic moment value were calculated and 6.454 Å and 3.678 μB f.u. values were obtained respectively. The lattice constant and total magnetic moment value obtained for Pd₂CrPb compound were compared to existing values in the literature, and the results obtained were found to be consistent with the literature results. The calculation of bulk modulus in this study is non-existent in the literature. The bulk modulus of this molecule is presented in the literature in this sense. The aim of the study is to publish the results of studies on non-existent electronic, structural and elastic properties for Pd₂CrPb compound conducted using density functional theory. The electronic band structure, total and partial density graphs for Pd₂CrPb compound were drawn. Bulk modulus (B), Shear modulus (G), B/G ratio, Young modulus (E), Poisson ratio, C₁₁, C₁₂ and C₄₄ values were also calculated for this compound. Pd₂CrPb compound meets Born stability principles and calculated elastic stabilities show that this compound is mechanically stable.

Keywords: Band structure, Pd₂CrPb, GGA-PBE, Density functional theory

Pd₂CrPb Heusler Bileşiğinin Yapısal ve Elastik Özellikleri

Öz: Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) ile Pd₂CrPb bileşiğinin elektronik, yapısal ve elastik özellikleri incelenmiştir. Denge durumundaki örgü sabiti ve toplam manyetik moment değeri hesaplanmıştır ve sırasıyla değerleri 6.454 Å ve 3.678 μB f.u. bulunmuştur. Pd₂CrPb bileşiği için elde edilen örgü sabiti ve toplam magnetik moment değerleri literatürde mevcut olan değerler ile karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçların literatür sonuçları ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada yapılan bulk modülü hesaplaması literatürde mevcut değildir. Bu anlamda literatürde bu molekülün bulk modülü sunulmuştur. Pd₂CrPb bileşiği için literatürde mevcut olmayan elektronik, yapısal ve elastik özellikleri ile ilgili çalışmalar yoğunluk fonksiyon teorisi yardımı ile gerçekleştirilerek elde edilen sonuçların literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. Pd₂CrPb için elektronik bant yapıları, toplam ve kısmi durum yoğunluğu grafikleri çizilmiştir. Ayrıca bu bileşik için Bulk modülü (B), Shear modülü (G), B/G oranı, Young modülü, Poisson oranı, C₁₁, C₁₂ ve C₄₄ hesaplanmıştır. Pd₂CrPb bileşiği Born kararlık ilkelerini sağlamaktadır ve hesaplanan elastik sabitleri bu bileşiğin mekaniksel olarak kararlı olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Band yapısı, Pd₂CrPb, GGA-PBE, Yoğunluk fonksiyonel teorisi

1. Introduction

When elements that form Heusler's compounds come together, it is discovered that these compounds transform ferromagnetic material, and they are an ideal material group for spintronics and magneto-

electronic practices due to their interesting magnetic properties. First Heusler type compounds were discovered adding 3rd group element aluminum to CuMn alloy by Friedrich Heusler in 1903 (Heusler, 1903).

Heusler compounds crystallize in stoichiometric order, when full and semi-Heusler compounds crystallizing in the $L2_1$ and $C1_b$ structures (Offernes et al., 2008; Otto et al., 1987; Otto et al., 1987). Heusler compounds have four fcc substrings interwoven with positions (0,0,0) and (1/2,1/2,1/2) for the X atom, (1/4,1/4,1/4) for the Y atom, and (3/4,3/4,3/4) for the Z atom. Semi-Heusler compounds are made up of four interwoven substrings, three of which are ridden with X, Y, and Z atoms, while the fourth (1/2,1/2,1/2) is empty. The $C1_b$ structure is formed by changing half of the X sites in neat form from the $L2_1$ structure. Full Heusler compounds with X_2YZ formulas have a 2:1:1 stoichiometric composition and are in the Fm-3m space group (Xing et al., 2009). Quaternary Heusler compounds with $XX'YZ$ chemical formula are in the 1:1:1:1 stoichiometric composition and in the F-43m space group (Xu et al., 2013). In full Heusler compounds, when X and Y are generally two different transition metals, Z is a non-magnetic III-VI A, i.e., sp group element. In quaternary Heusler compounds, when X, X' and Y elements are in the transition metal group, and Z elements are in the III-V group of the periodic table. LiMgPdSn structure can be shown as an example for quaternary Heusler compounds (Xu et al., 2013; Eberz et al., 1980).

Many studies have been conducted on Heusler compounds, but no comprehensive study on the electronic and elastic properties of Pd_2CrPb compound has been completed. In his doctoral thesis, M. Gilleßen (Gilleßen, 2009) only examined the lattice constant and total magnetic moment values. The VASP package program was used to examine the basic properties of the Pd_2CrPb compound, and new data were included, and the results were shared.

The band, partial and total DOS structures, as well as the electronic properties of compounds, were the focus of this research. Elastic stabilities for compounds were also calculated and with the help of obtained elastic stabilities, these compounds are determined to be mechanically stable.

2. Material and Method

All calculations for Pd_2CrPb compound were made by using the VASP (Meda-A) package program based on density functional theory. Generalized Gradient Approximation (GGA) was used by using the Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) diagram (Kresse and Hafner, 1993;1994; Kresse and Furthmüller, 1996; 1996; Perdew et al., 1996). The energy cutoff value was taken as 500 eV, and the Brillouin region was studied using 4x4x4 k-dots generated by the Monkhorst-Pack scheme. In this study, primarily lattice

constant, bulk modulus, and total magnetic moment values within the scope of structural parameters were calculated for Pd₂CrPb compound. Shear modulus, B/G ratio, Young modulus and Poisson ratio were searched for Pd₂CrPb by obtaining elastic stables.

3. Results and Discussion

Pd₂CrPb compound is examined for the Palladium-based in the L2₁ phase, which has a Fm-3m space group and crystallizes in a cubic structure. Fig. 1 shows the crystal structure of the Pd₂CrPb compound. The total magnetic value and balance lattice stability were obtained. Lattice parameter and total magnetic moment values are in Table 1 with existing theoretical data. Obtained values for the compound are in good agreement with existing results.

Table 1. The lattice constant (Å) and total magnetic moment (μB f.u)

Pd ₂ CrPb	a ₀ (Å)	M (μB f.u.)
Present work	6.454	3.678
Theory (Gilleßen, 2009)	6.553	3.90

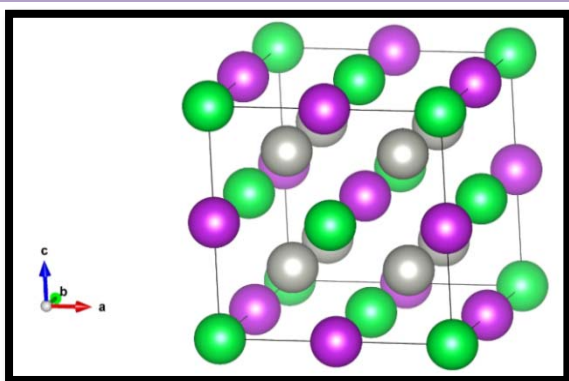


Figure 1. The structural optimization of Pd₂CrPb full Heusler Compound

Lattice parameter and total magnetic moment values are in Table 1 with existing theoretical data. Obtained values for the compound are in good agreement with existing results.

Elastic properties of a cubic crystal establish a connection with the mechanical properties of that crystal and give critical information about its stability. Flexibility stables of cubic crystal are shown as C_{ij} and are defined by C₁₁, C₁₂ and C₄₄ (Luan et al., 2018; Rassoulinejad-Mousavi et al., 2016). Cubic crystals have to meet Born stable principles to be mechanically stable. Born stable principles for cubic crystals are below ; (Mogulkoc, et al. 2013; Wu et al., 2007; Mouhat and Coudert 2014);

$$C_{11} > 0, C_{44} > 0, C_{11} > |C_{12}|, (C_{11} + 2C_{12}) > 0 \quad (1)$$

The mechanical stability of the Pd₂CrPb compound was analyzed in terms of the elastic stables. Table 2 shows the values found for the elastic stables, and when the obtained values are examined, it is seen that the Pd₂CrPb compound meets the Born stability principles and is mechanically. Bulk modulus (B), Shear modulus (G), B/G ratio, Young modulus (E), Poisson ratio values were also calculated for this compound and all these calculated were listed at Table3.

Table 2. The calculated elastic constants C_{ij} (C₁₁, C₁₂, and C₄₄).

C ₁₁ (Gpa)	C ₁₂ (Gpa)	C ₄₄ (Gpa)
139.664	126.765	69.858

Table 3. The calculated Bulk modulus (B), Shear modulus (G), B/G ratio, Young modulus (E) and Poisson ratio (ν).

Compound	B	G	B/G	E	ν
Pd ₂ CrPb	131.064	29.328	4.47	81.878	0.40

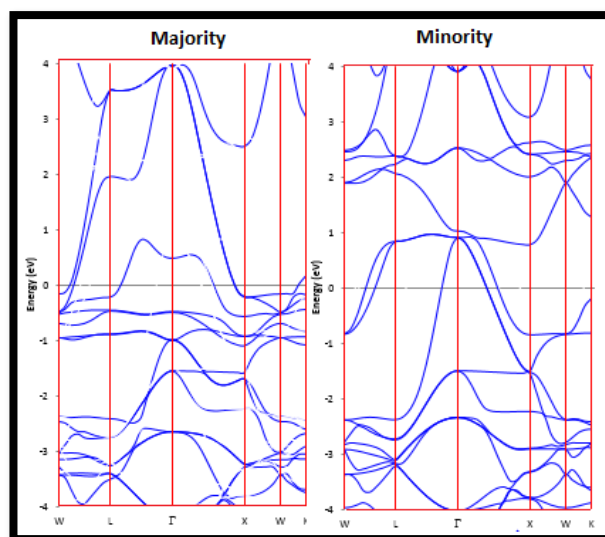
When the unit cell of the crystal is in the state of balance and minimal strains are applied, the Bulk modulus is obtained using the energy change. The Bulk modulus is a measure of the resistance against volume change under applied pressure.

The mechanical properties of Pd₂CrPb compound were investigated using the bulk modulus to shear modulus ratio (B/G). According to Pugh criteria, when the B/G ratio is below 1.75, the material shows brittle behavior, and when the B/G ratio is above 1.75, the material shows ductile behavior (Mouhat and Coudert, 2104; Perdew et al., 1993; Pugh, 1954).

Shear modulus is a measurement of the material's stretching under shears or resistance to lateral pressure; as a result, the shear modulus determines hardness better than isotropic compressibility modules. The Young modulus is expressed as the ratio of the tensile strain to the tensile strength, and a high Young modulus indicates that the material is hard.

The Poisson ratio is an essential property of materials that provides information about the characteristics of binding forces. When covalently bound materials have a Poisson ratio of about 0.1,

electrostatically bound materials have a Poisson ratio of about 0.2. These values for Pd₂CrPb compound were calculated and are shown in Table 3. As can be seen in Table 3, the Pd₂CrPb compound has a ductile structure and an electrovalent character.

**Figure 2.** The band structure of Pd₂CrPb Compound

For Pd₂CrPb compound in L2₁ structure, spin-polarized band structures are given in Fig. 2 along high symmetry directions in the first Brillouin region. As shown in Fig.2, there is no electronic space for either the upper or lower spin, and the conductivity and valence bands are interwoven. Fig. 3 shows the total density of states in order to better analyze the electronic contribution for Pd₂CrPb compound and energy space, which does not

exist at the Fermi level. This situation shows that polarized band structures exhibit metallic behavior in both spin orientations.

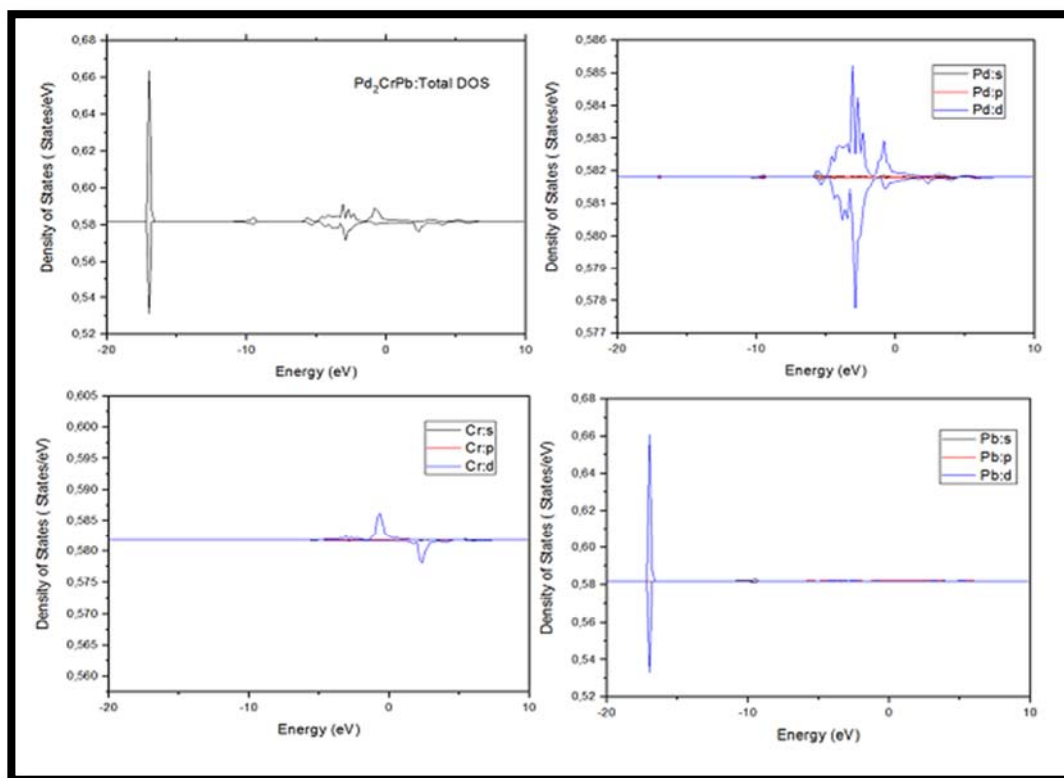


Figure 3. The total and partial DOS of Pd₂CrPb Compound

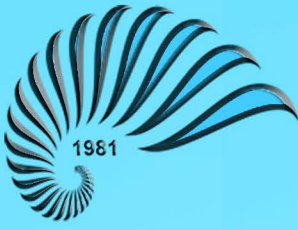
In this study, the electronic, structural, and elastic properties of Pd₂CrPb compound that is in Fm-3m space group and cubic structure were investigated using DFT theory, which is a theoretical model for Pd₂CrPb compound in Fm-3m space group and cubic structure. The compound's lattice parameter and total magnetic moment were calculated, and the results were found to be consistent with the existing values in the literature. Bulk modules of Pd₂CrPb compound were also obtained; however, no comparison of this value can be made because there is no experimental and theoretical study about this compound in the literature. The band structure, partial and

total density of state diagrams for Pd₂CrPb compound were obtained, and because the Fermi level has finite energy, the compound exhibits metallic behavior. Since the obtained B/G ratio of Pd₂CrPb compound is greater than 1.75, it is understood that the material exhibits ductile behavior. Elastic properties of Pd₂CrPb compound are presented first in this study and calculated analysis of elastic stables shows that Pd₂CrPb compound is in the stable structure. Due to the properties of the Pd₂CrPb compound, it can be said that the Pd₂CrPb compound is a prospective material for magneto-electronic and spintronic practices.

References

- Eberz U, Seelentag W, Schuster HU (1980). Coloured ternary and quaternary zintl-phase. *Zeitschrift für Naturforschung* 35b: 1341–1343.
- Gilleßen M (2009). Über die quantenchemischen Untersuchungen einiger ternärer intermetallischer Verbindungen, *Aachen University.zur Erlangung des akademischen Grades eines*.
- Heusler F (1903). *Verhandlungen der Deutschen Physikalischen Gesellschaft*, sec. 5, pp. 219.
- Kresse G, Hafner J (1993). Ab initio molecular dynamics for liquid metals. *Phys Rev B* 47: 558–561.
- Kresse G, Hafner J (1994). Ab initio molecular-dynamics simulation of the liquid-metalamorphous- semiconductor transition in germanium. *Phys Rev B* 49: 14251–14269.
- Kresse G, Furthmüller J (1996). Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set. *Comput Mater Sci* 6: 15–50.
- Kresse G, Furthmüller J (1996). Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set. *Phys Rev B* 54: 11169.
- Luan X, Qin H, Liu F, Dai Z, Yi Y, Li Q (2018). The mechanical properties and elastic anisotropies of cubic Ni₃Al from first principles calculations. *Crystals* 8.
- Mogulkoc Y, Ciftci YO, Kabak M, Colakoglu K (2013) First-principles study of structural, elastic and electronic properties of NdTe₂ and TiNdTe₂. *Cumhur Sci J* 34: 12–28.
- Mouhat F, Coudert FX (2014). Necessary and sufficient elastic stability conditions in various crystal systems. *Phys Rev B - Condens. Matter Mater, Phys* 90: 4–7.
- Offernes L, Ravindran P, Seim CW, Kjekshus A (2008). Prediction of composition for stable half-heusler phases from electronicband-structure analyses. *Journal of Alloys and Compounds* 458: 47–60.
- Otto MJ, van Woerden RAM, van der Valk PJ, Wijngaard J, van Bruggen CF, Haas C, Buschow KHJ (1987). Half-metallic ferromagnets. 1. structure and magnetic properties of NiMnSb and related intermetallic compounds. *Journal of Physics: Condensed Matter* 1: 2341.
- Otto MJ, Feil H, van Woerden RAM, Wijngaard J, van der Valk PJ, Van Bruggen CF, Haas C (1987). Electronic structure and magnetic, electrical and optical properties of ferromagnetic heusler alloys. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 70: 33–38.
- Perdew JP, Chevary JA, Vosko SH, Jackson KA, Pederson MR, Singh DJ, Fiolhais C (1993). Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. *Physical Review B* 48(7): 4978.
- Perdew JP, Burke K, Ernzerhof M (1996). Generalized gradient approximation made simple. *Phys Rev Lett* 77: 3865–3868.
- Pugh SF (1954). XCII. Relations between the elastic moduli and the plastic properties of polycrystalline pure metals, London, Edinburgh, Dublin Philos. *Mag J Sci* 45: 823–843.
- Rassoulinejad-Mousavi SM, Mao Y, Zhang Y (2016) Evaluation of copper, aluminum, and nickel interatomic potentials on predicting the elastic properties. *J Appl Phys* 119: 1–3.

- Wu ZJ, Zhao EJ, Xiang HP, Hao XF, Liu XJ, Mengi J (2007). Crystal structures and elastic properties of superhard Ir N₂ and Ir N₃ from first principles. *Phys Rev B - Condens Matter Mater Phys* 76: 1–15.
- Xing N, Gong Y, Zhang W, Dong J, Li H (2009). First-principle prediction of half-metallic properties for the Heusler alloys V₂YSb (Y = Cr, Mn, Fe, Co). *Comput Mater Sci* 45: 489–493.
- Xu GZ, Liu EK, Du Y, Li GJ, Liu GD, Wang WH, Wu GH (2013). A new spin gapless semiconductors family: quaternary heusler compounds. *EPL: A Letters Journal Exploring the Frontiers of Physics* 102(17707): 1–6.



İÇİNDEKİLER (CONTENTS)



- Bazı Lacertidlerde (*Lacerta trilineata* s.l., *Parvilacerta parva*, *Ophisops elegans*) Karşılaştırmalı Yaş Tayini**125–135
*Comparative Age Determination in Some Lacertids (*Lacerta trilineata* s.l., *Ophisops elegans*, *Parvilacerta parva*)*
Çiğdem KAPLAN, Cemal Varol TOK
- Hücre Kültürlerine Genel Bakış**.....136–149
Overview of Cell Cultures
Harika Eylül ESMER DURUEL, Nazlı Sevim ÇAĞAN, Serra IŞIK, Figen Esin KAYHAN
- Ga katkılı Li_2MnO_3 Katot Malzemesinin İyonik İletkenlik Ölçümleri**150–157
Ionic Conductivity Measurements of Ga-doped Li_2MnO_3 Cathode Material
Hadi Baveghar, Gültekin ÇELİK, Serdar DALKILIÇ
- Adını Spil Dağı'ndan Alan Lamiaceae Taksonlarının Anatomik Özelliklerinin Sayısal Olarak Karşılaştırılması**.....158–167
Numerical Comparison of Anatomical Features of Lamiaceae Taxa Named After Spil Mountain
Peri Ilgar kızı MEMMEDOVA, Canan ÖZDEMİR
- Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Meyve Sineği Modelinde Besin Olarak Kabak Çekirdeği Zarının Değerlendirilmesi**.....168–180
Evaluation of the Pumpkin Seed Membrane as a Nutrient in the Fruit Fly Model, Fed With High Fat Diet
Eda GÜNEŞ, Şerife BİÇER BAYRAM
- Endemik *Cousinia aucheri* DC. (İnce Kızan) Üzerine Anatomik, Palinolojik ve Mikromorfolojik Araştırmalar**.....181–191
*Anatomical, Palynological and Micromorphological Studies on *Cousinia aucheri*, an Endemic Species*
Bayram ATASAGUN, Deniz ULUKUŞ, Osman TUGAY
- Endemik *Cousinia decolorans* Freyn & Sint. (Asteraceae) Türünün Anatomik, Palinolojik ve Mikromorfolojik Özellikleri**.....192–202
*Anatomical, Palynological and Micromorphological Characteristics of Endemic *Cousinia decolorans* Freyn & Sint. (Asteraceae)*
Deniz ULUKUŞ, Bayram ATASAGUN, Osman TUGAY
- Organik Yarıiletken Tetrasiyaoquinodimetan Tabanlı Heteroyapıların Optoelektronik Özelliklerinin Araştırılması**.....203–213
Investigation of Optoelectronic Properties of Organic Semiconductor Tetracyaoquinodimethane Based Heterostructures
Burcu AVCI, Ali Akbar HUSSAINI, Mehmet Okan ERDAL, Murat YILDIRIM
- Pd_2CrPb Heusler Bileşiğinin Yapısal ve Elastik Özellikleri**214–220
Structural and Elastic Properties of Pd_2CrPb Heusler Compound
Ziya MERDAN, F. Irmak BALMUMCU

Ekim 2021

Cilt: 47

Sayı : 2