



Muş Alparslan Üniversitesi

MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ / MUŞ ALPARSLAN UNIVERSITY

www.alparslan.edu.tr

e-ISSN: 2149-6455

Aralık/December 2021

Cilt/Volume 09

Sayı/Issue 02

**FEN BİLİMLERİ
DERGİSİ**
THE JOURNAL of
SCIENCE



MSUFBD

**Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science**

YIL/YEAR: 2021 • CİLT/VOLUME: 9 • SAYI/NUMBER: 2

Yazılarda ifade edilen görüş ve düşünceler yazarlarının kişisel görüşleri olup derginin ve bağlı bulunduğu kurumun görüşlerini yansıtmaz.

The opinions and views expressed in papers published on the journal belong only to its author(s) and do not necessarily reflect the views of the journal and its publisher.



MSUFBD

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Dağıtım

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından yapılmaktadır.

ISSN	:	2147-7930
e-ISSN	:	2149-6455
Basım Tarihi	:	15/12/2021
Cilt	:	9
Sayı	:	2
İlk Yayın Tarihi	:	2013
Basım Yeri	:	Muş
Yayın Türü	:	Yılda iki defa olmak üzere altı ayda bir (Haziran ve Aralık) elektronik olarak yayımlanan uluslararası hakemli ve süreli yayındır.
Yayın Dili	:	Türkçe ve İngilizce'dir.
Adres	:	Muş Alparslan Üniversitesi Kampüsü, Fen Bilimler Enstitüsü, Diyarbakır Yolu 7. Km, 49250 – MUŞ / TÜRKİYE
e-posta	:	a.cetin@alparslan.edu.tr
URL	:	http://dergipark.gov.tr/msufbd

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yıl/Year: 2021 • Cilt/Volume: 9 • Sayı/Number: 2

Yayın Kurulu • Editorial Board

Muş Alparslan Üniversitesi Adına	
Sahibi / Owner	Prof. Dr. Fethi Ahmet POLAT (Rektör) Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Baş Editör / Editor-in-Chief	Doç. Dr. Adnan ÇETİN Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Editör Yardımcısı / Associate Editor	Dr. Harun Önlü Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Yayın Kurulu Üyeleri / Editorial Board Members	Prof. Dr. Mahmoud ELAASSER Al-Azhar University / Egypt Prof. Dr. Charis SEMİDALES University of Athena / Greek Prof. Dr. Nizameddin İSKENDEROV University of Baku State / Azerbaijan Doç. Dr. Wael Ibrahim Mostofa MORTADA Mansoura University / Egypt Doç. Dr. Wasim Akhtar Jamia Hamdard University/ India Doç. Dr. Kenan YILDIRIM Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye Dr. Ömer ARSLAN Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye Dr. Garima Verma Jamia Hamdard University/ India Dr. Şeyma Önlü Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Sekreteryası / Secretariat	Arş. Grv. Emine ŞAHİN
Teknik Redaksiyon / Redaction	Arş. Grv. Tayfun ABUT
Grafik Tasarım / Design	Öğr. Grv. Serdar Dik

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yıl: 2021 • Cilt: 9 • Sayı: 2

Amaç ve Kapsam

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi, temel bilimler, mühendislik bilimleri, çevre ve enerji alanlarında ulusal ve uluslararası düzeyde yapılan bilimsel nitelikli ve özgün çalışmaları bilimsel bir yaklaşımla ele almak amacıyla yayımlanan uluslararası hakemli bir dergidir. Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisinin temel amacı uluslararası alanda bilim ve teknolojiye yenilikler ve gelişmeler, güncel ortaya konulan bilimsel çalışmalar, tespit edilen sorunların ve çözüm önerilerinin tartışıldığı özgün ve nitelikli makaleler yayınlanan bilimsel bir dergi olmaktır. Ayrıca Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi, yükseköğretim kurumlarında görev alan akademisyenler, lisansüstü öğrenciler, sanayi ve endüstride çalışan kişilerin akademik ve mesleki gelişimlerine katkı sağlayan bilimsel, nitelikli akademik çalışmaların yaygınlaştırılmasına hizmet etmeyi hedeflenmektedir.

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi; temel bilimleri, tarım ve uygulamalı bilimleri, doğa bilimleri ve mühendislik alanları ile alakalı konularda özgün ve nitelikli bilimsel çalışmaları kapsamaktadır. Dergide, yukarıda belirtilen alanlarda yapılmış deneysel ve teorik ilerlemeleri içeren bilimsel ve özgün araştırma makalesi türündeki bilimsel çalışmalara ve güncel içerikli derlemelere yer verilmektedir. Dergide yayımlanan tüm makalelere DOI numarası atanmakta ve yayımlanan makaleler için herhangi bir ücret talep edilmemektedir. Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisinde yayımlanan yazıların bilimsel ve hukukî sorumluluğu, yazarlarına aittir. Yayımlanan yazıların bütün yayın hakları Muş Alparslan Üniversitesi'ne ait olup yayın, yayıncının izni olmadan kısmen veya tamamen elektronik ortama taşınmaz. Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi, özgün bilimsel araştırmalar ile uygulama çalışmalarına yer veren Haziran ve Aralık sayısı olmak üzere yılda iki defa düzenli olarak yayımlanan bir dergidir.

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi aşağıdaki indekslerce taranmaktadır:

- International Innovative Journal Impact Factor (IIJIF),
- Research Bible
- Scientific Indexing Service
- Infobase index
- DRJI (Directory of Research Journals Indexing)
- CrossRef DOI
- Academic keys
- COSMOS IF
- Eurasian Scientific Journal Index (ESJI)
- Index Copernicus
- National Science Digital Library
- CiteFactor

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yıl/Year: 2021 • Cilt/Volume: 9 • Sayı/Number: 2

Aims and Scope

Muş Alparslan University Journal of Science is an international refereed journal that is published with a scientific approach in order to handle scientific and original studies in the fields of basic sciences, engineering sciences, environment and energy. The main aim of Muş Alparslan University Science Journal is to become a scientific journal which published original and qualified articles, current scientific studies, their identified problems and their solution suggestions, discussing innovations and developments in science and technology in the international surroundings. In addition, Muş Alparslan University Journal of Sciences is aimed to serve the dissemination of scientific and qualified academic studies which contributed to the academic and professional development of academicians, graduate students, working people in industry.

Muş Alparslan University Journal of Science is covered original and qualified scientific studies in the fields of basic sciences, agriculture and applied sciences, natural sciences and engineering. There are scientific, original research articles and current content reviews that are included experimental and theoretical advances mentioned above in the fields in the journal. All published articles in the journal are assigned a DOI number and no fee is charged for the published articles. The authors are belong to scientific and legal responsibility of the articles published in Muş Alparslan University Journal of Science. Muş Alparslan University is belong to all publishing rights of the published articles and it cannot be publish to the electronic medium partially or completely without the permission of the publisher. Muş Alparslan University Journal of Science including the June and December issues is a regular journal published twice a year that is included original scientific research and application studies.

Muş Alparslan University Journal of Science is included in the following abstracting and indexing services:

- International Innovative Journal Impact Factor (IIJIF),
- Research Bible
- Scientific Indexing Sevice
- Infobase index
- DRJI (Directory of Research Journals Indexing)
- CrossRef DOI
- Academic keys
- COSMOS IF
- Eurasian Scientific Journal Index (ESJI)
- Index Copernicus
- National Science Digital Library
- CiteFactor

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yıl/Year: 2021 • Cilt/Volume: 9 • Sayı/Number: 2

MSUFBD Dergi Yayın Etiği ve Sorumluluklar

MSUFBD Dergisinde uygulanan yayın süreçlerinde yazarlar, hakemler ve editörler etik ilkelere yönelik standartlara uyması önem taşımaktadır. **MSUFBD** Dergisinde yayın etiği kapsamında tüm yazarlar, hakemler ve editörler aşağıdaki etik sorumlulukları taşıması beklenmektedir. Aşağıda yer alan etik görev ve sorumluluklar oluşturulurken açık erişim olarak **Committee on Publication Ethics (COPE)** tarafından yayınlanan etik kurallara ve sorumluluklar dikkate alınarak hazırlanmıştır.

Yazarların Etik Sorumlulukları

Yazar(lar)ın gönderdikleri çalışmaların özgün olması beklenmektedir. Yazar(lar)ın başka çalışmalardan yararlanmaları veya başka çalışmaları kullanmaları durumunda eksiksiz ve doğru bir biçimde atıfta bulunmaları ve/veya alıntı yapmaları gerekmektedir. Çalışmanın oluşturulmasında içeriğe katkı sağlamayan kişiler, yazar olarak eklenmemelidir. Yazarlar çalışmalarını aynı anda birden fazla derginin başvuru sürecinde bulunduramaz. Her bir başvuru önceki başvurunun tamamlanmasını takiben başlatılabilir. Başka bir dergide yayınlanmış çalışma **MSUFBD** Dergisine gönderilemez. Yayınlanmak üzere gönderilen tüm çalışmaların varsa çıkar çatışması teşkil edebilecek durumları ve ilişkileri açıklanmalıdır. Yazar(lar)dan değerlendirme süreçleri çerçevesinde makalelerine ilişkin ham veri talep edilebilir, böyle bir durumda yazar(lar) beklenen veri ve bilgileri yayın kurulu ve bilim kuruluna sunmaya hazır olmalıdır. Değerlendirme süreci başlamış bir çalışmanın yazar sorumluluklarının değiştirilmesi (Yazar ekleme, yazar sırası değiştirme, yazar çıkartma gibi) teklif edilemez. Yazar(lar) kullanılan verilerin kullanım haklarına, araştırma/analizlerle ilgili gerekli izinlere sahip olduklarını veya deney yapılan deneklerin rızasının alındığını gösteren belgeye sahip olmalıdır. Yazar(lar)ın yayınlanmış, erken görünüm veya değerlendirme aşamasındaki çalışmasıyla ilgili bir yanlış ya da hatayı fark etmesi durumunda, dergi editörünü veya yayıncıyı bilgilendirme, düzeltme veya geri çekme işlemlerinde editörle işbirliği yapma yükümlülüğü bulunmaktadır.

Editörlerin Etik Görev ve Sorumlulukları

MSUFBD Dergisindeki editörler ve alan editörleri, açık erişim olarak Dergipark sayfasında yayınlanan **Committee on Publication Ethics (COPE)** tarafından belirtilen etik görev ve sorumluluklara sahip olmalıdır:

Genel Görev ve Sorumluluklar

Sürekli olarak derginin gelişimini sağlama, dergide yayınlanan çalışmaların kalitesini geliştirmeye yönelik süreçleri yürütme, okuyucuların ve yazarların bilgi ihtiyaçlarını karşılamaya yönelik çaba sarfetme, düzeltme, açıklama gerektiren konularda yayın açısından açıklık ve şeffaflık gösterme. fikri mülkiyet hakları ve etik standartlardan taviz vermeden iş süreçlerini devam ettirme editörün görev ve sorumluluklarındandır.

Hakemlerin Etik Sorumlulukları

Sadece uzmanlık alanı ile ilgili çalışma değerlendirmeyi kabul etmelidir. Tarafsızlık ve gizlilik içerisinde değerlendirme yapılmalıdır. Gizlilik ilkesi gereği inceledikleri çalışmaları değerlendirme sürecinden sonra imha etmelidir. Değerlendirme sürecinde çıkar çatışması ile karşı karşıya olduğunu düşünürse, çalışmayı incelemeyi reddederek, dergi editörünü bilgilendirmelidir. Değerlendirmeyi nesnel bir şekilde sadece çalışmanın içeriği ile ilgili olarak yapmalıdır. Değerlendirmeyi yapıcı ve nazik bir dille yapmalıdır. Düşmanlık, iftira ve hakaret içeren aşağılayıcı kişisel yorumlar yapmamalıdır. Değerlendirmeyi kabul ettikleri çalışmayı zamanında ve yukarıdaki etik sorumluluklarda gerçekleştirilmelidir.

Yayıncının Etik Sorumlulukları

MSUFBD Dergisinde gönderilen çalışmaların tüm süreçlerinden editör sorumludur. Bağımsız editör kararı oluşturulmasını taahhüt eder. **MSUFBD** Dergisinde ekonomik ya da politik kazançlar göz önüne alınmaksızın karar verici kişi editördür. **MSUFBD** Dergisinde yayınlanmış her makalenin mülkiyet ve telif hakkını korumak zorundadır. Editöre ilişkin her türlü bilimsel suiistimal ve intihalle ilgili önlemleri alma sorumluluğuna sahiptir.

Yazarlar ile İlişkiler

Editör, çalışmaların önemi, özgün değeri, geçerliliği, anlatımın açıklığı ve derginin amaç ve hedeflerine dayanarak olumlu ya da olumsuz karar vermektedir. Yayın kapsamına uygun olan çalışmaların ciddi problemi olmadığı sürece ön değerlendirme aşamasına almalıdır. Editör, çalışma ile ilgili ciddi bir sorun olmadıkça, olumlu

yöndeki hakem önerilerini göz ardı etmemelidir. Yeni editör, çalışmalara yönelik olarak önceki editör tarafından verilen kararları ciddi bir sorun olmadıkça değiştirmemelidir. **MSUFBD** Dergisinde bir Yazar Rehberi yayımlanmalıdır. Yazarlara açıklayıcı ve bilgilendirici şekilde bildirim ve dönüş sağlanmalıdır.

Hakemler ile İlişkiler

Editör; dergi yayın politikalarında yer alan **Kör Hakemlik ve Değerlendirme Süreci** politikalarını uygulamakla yükümlüdür. Hakemleri yayının alan konusuna uygun olarak seçilmelidir. Yayının değerlendirme sürecinde gerekli tüm bilgileri hakemlere sağlamakla yükümlüdür. Yazarlar ve hakemler arasından çıkar çatışması olup olmadığını gözetmek durumundadır. Yayının değerlendirme sürecinde hakemlerin kimlik bilgilerini gizli tutmalıdır. Hakemleri tarafsız, bilimsel ve nesnel bir dille çalışmayı değerlendirmeleri için teşvik etmelidir. Hakem havuzunun geniş bir yelpazeden oluşması için adımlar atmalıdır. Hakemlerin performansını artırıcı uygulama ve politikalar belirlemelidir. Bilimsel olmayan değerlendirmeleri engellemelidir.

Okuyucu ile İlişkiler

Editör tüm okuyucuların ihtiyaç duydukları bilgi, beceri ve deneyim beklentilerini dikkate alarak karar vermelidir. Yayımlanan çalışmaların okuyucu, araştırmacı, uygulayıcı ve bilimsel literatüre katkı sağlamasına ve özgün nitelikte olmasına dikkat etmelidir. Editör okuyuculardan gelen geri bildirimleri dikkate almak, açıklayıcı ve bilgilendirici geri bildirim vermekle yükümlüdür.

Yayın Kurulu ile İlişkiler

Editör, tüm yayın kurulu üyelerinin süreçleri yayın politikaları ve yönergelere uygun ilerletmesini sağlamalıdır. Yayın kurulu üyelerini yayın politikaları hakkında bilgilendirmeli ve gelişmelerden haberdar etmelidir. Yeni yayın kurulu üyelerini yayın politikaları konusunda eğitmeli, ihtiyaç duydukları bilgileri sağlamalıdır.

Dergi Sahibi ve Yayıncı ile İlişkiler

Editör ile yayıncı arasında yapılan yazılı sözleşme gereği, editörün alacağı tüm kararlar yayıncı ve dergi sahibinden bağımsızdır. Yani editör ve yayıncı arasındaki ilişki bağımsızlık ilkesine dayanmaktadır.

Kişisel Verilerin Korunması

Editör; değerlendirilen çalışmalarda yer alan deneklere veya görsellere ilişkin kişisel verilerin korunmasını sağlamakla yükümlüdür. Çalışmalarda kullanılan bireylerin açık rızası belgeli olmadığı sürece çalışmayı reddetmekle görevlidir. Ayrıca editör; yazar, hakem ve okuyucuların bireysel verilerini korumaktan sorumludur.

Etik Kurul, İnsan ve Hayvan Hakları

Editör; değerlendirilen çalışmalarda insan ve hayvan haklarının korunmasını sağlamakla yükümlüdür. Çalışmalarda kullanılan deneklere ilişkin etik kurul onayı, deneysel araştırmalara ilişkin izinlerin olmadığı durumlarda çalışmayı reddetmekle sorumludur.

Olası Suiistimal ve Görevi Kötüye Kullanmaya Karşı Önlem

Editör; olası suiistimal ve görevi kötüye kullanma işlemlerine karşı önlem almakla yükümlüdür. Bu duruma yönelik şikayetlerin belirlenmesi ve değerlendirilmesi konusunda titiz ve nesnel bir soruşturma yapmanın yanı sıra, konuyla ilgili bulguların paylaşılması editörün sorumlulukları arasında yer almaktadır.

Fikri Mülkiyet Haklarının Korunması

Editör; yayımlanan tüm makalelerin fikri mülkiyet hakkını korumakla, olası ihlallerde derginin ve yazar(lar)ın haklarını savunmakla yükümlüdür. Ayrıca editör yayımlanan tüm makalelerdeki içeriklerin başka yayınların fikri mülkiyet haklarını ihlal etmemesi adına gerekli önlemleri almakla yükümlüdür. Bu aşamada yazarlardan makaleleri ile birlikte almış oldukları intihal raporu talep edilmektedir.

NOT: MSUFBD Dergisinde Etik Olmayan Bir Durumla Karşılaşırsanız!

MSUFBD Dergisinde yukarıda bahsedilen etik sorumluluklar ve dışında etik olmayan bir davranış veya içerikle karşılaşırsanız lütfen msufbd@alparslan.edu.tr adresine e-posta yoluyla bildiriniz.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yıl/Year: 2021 • Cilt/Volume: 9 • Sayı/Number: 2

MSUFBD Journal Editorial Ethics and Responsibilities

It is important for authors, referees and editors to comply with the standards regarding ethical principles in the publication processes applied in the Journal of MSUFBD. All authors, referees and editors are expected to have the following ethical responsibilities within the scope of publication ethics in MSUFBD journal. The following ethical duties and responsibilities have been prepared as open access, taking into account the ethical rules and responsibilities published by the Committee on Publication Ethics (COPE).

Authors' Ethical Responsibilities

The works submitted by the author (s) are expected to be original. If the author (s) benefit from other studies or use other studies, they must cite and / or cite completely and accurately. People who do not contribute to the content of the study should not be added as author. The authors work in the application process can not contain more than one journal at a time. The work published in another journal cannot be sent to the MSUFBD Journal. That might constitute a conflict of interest if all studies submitted for publication must be explained and relationships. Author (s) can be requested from the evaluation process raw data of the frame in the article, in such a case the author (s) must be ready to provide the expected data and information science committee and the editorial board. Replacing the responsibility of the author began a study of the evaluation process (authors add, modify order of authors, writers like stickers) cannot be offered. The author (s) must have a document showing that they have the right to use the data used, the necessary permissions for research / analysis, or that the subjects who have been experimented with have consent. Author (s) of the published case early view or assessment notice a wrong or error about her work on stage, to inform the journal editor or publisher has an obligation to carry editors to cooperate in the correction or retraction.

Editors' Ethical Duties and Responsibilities

Editors and field editors in the MSUFBD Journal should have the ethical duties and responsibilities specified by the Committee on Publication Ethics (COPE) published on the Dergipark page as open access:

General Duties and Responsibilities

Continuously improving the quality of the journal, carrying out processes to improve the quality of the work published in the journal, striving to meet the information needs of readers and authors, correcting, showing publicity and transparency in matters requiring explanation, continuing business processes without compromising intellectual property rights and ethical standards is one of his duties and responsibilities.

Ethical Responsibilities of Referees

Only study related to the specialty should accept the assessment. It should evaluate in impartiality and confidentiality. The study examined the privacy policy should be destroyed after the evaluation process. If referee thinks that he/she faces a conflict of interest during the evaluation process, he should refuse to review the study and inform the journal editor. The referee should make the assessment objectively only in relation to the content of the study. Referee should make the assessment in a constructive and kind language. It should not make humiliating personal comments that include hostility, slander and insults. They should perform the work they accepted to evaluate on time and with the ethical responsibilities above.

Publisher's Ethical Responsibilities

The editor is responsible for all the processes submitted in the MSUFBD Journal. The independent editor commits to the decision. The decision maker is the editor, regardless of economic or political gains in the Journal of MSUFBD. It must protect the property and copyright of every article published in the MSUFBD journal. It has the responsibility to take all sorts of scientific abuse and plagiarism related measures.

Relations with Authors

Editor, the importance of the work, the original value, validity, the openness of expression and should give a positive or negative decision based on the journal's goals and objectives. Unless there is a serious problem for the studies that are suitable for publication, they should take the preliminary evaluation stage. The editor should not ignore the positive reviews of the referees unless there is a serious problem with the work. The new editor should not change the decisions made by the previous editor for the work unless there is a serious problem. It should publish an Author Directory in the MSUFBD journal. Authors should be provided with informative and informative feedback and feedback.

Relations with Referees

Editor is responsible for applying the Blind Review and Evaluation Process policies included in its publication policies. Referees should be selected in accordance with the subject of the publication. It is obliged to provide all necessary information to the referees during the evaluation process of the publication. It has to observe whether there is a conflict of interest among the authors and reviewers. The identity information of the referees must be kept confidential during the evaluation of the broadcast. Encourage referees to evaluate working in an objective, scientific and objective language. The referee should take steps to make the pool a broad spectrum. Implementations and policies that increase the performance of the referees should be determined. It should prevent unscientific evaluations.

Relations with Readers

The editor should make a decision by considering the knowledge, skills and experience expectations of all readers. The reader should pay attention to the fact that the published studies contribute to the reader, researcher, practitioner and scientific literature and be original. The editor is obliged to take into account the feedback from the readers and to provide explanatory and informative feedback.

Relations with the Editorial Board

The editor should ensure that all editorial board members advance the processes in accordance with editorial policies and guidelines. The editorial board should inform the members of the editorial policies and inform the developments. The new editorial board should educate its members on broadcast policies and provide the information they need.

Relations with the Owner of the Journal and the Publisher

In accordance with the written contract between the editor and the publisher, all decisions taken by the editor are independent of the publisher and magazine owner. In other words, the relationship between the editor and the publisher is based on the principle of independence.

Protection of Personal Data

The editor is obliged to ensure the protection of personal data related to the subjects or images in the evaluated works. Unless the explicit consent of the individuals used in the studies is documented, they are responsible for refusing to work. Also, editor is responsible for protecting the individual data of the author, referee and readers.

Ethics Committee, Human and Animal Rights

The editor is obliged to ensure the protection of human and animal rights in the evaluated works. Ethics committee approval for subjects used in studies is responsible for refusing to work in cases where there is no permit for experimental research.

Measure Against Potential Abuse and Abuse

The editor is obliged to take measures against possible abuse and misconduct. In addition to conducting a rigorous and objective investigation about the identification and evaluation of complaints for this situation, sharing the findings on the subject is among the responsibilities of the editor.

Protection of Intellectual Property Rights

The editor is obliged to protect the intellectual property right of all published articles and to defend the rights of the journal and author (s) in possible violations. In addition, the editor is obliged to take necessary precautions so that the content in all published articles does not violate the intellectual property rights of other publications. At this stage, the plagiarism report they received with the articles is requested from the authors.

NOTE: If you encounter an unethical situation in MSUFBD Journal!

If you encounter any ethical responsibilities and unethical behavior or content mentioned above in MSUFBD Journal, please report it to msufbd@alparslan.edu.tr by e-mail.

Danışma Kurulu	Advisory Board
Prof. Dr. Erdal Necip YARDIM Bitlis Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. S. S. VOLOSIVETS Saratov State University / Russia
Prof. Dr. Mehmet Serdar GÜLTEKİN Atatürk Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Vladimir ANDRIEVSKI Kent State University / USA
Prof. Dr. Cemil TUNÇ Yüzüncü Yıl Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Ramazan MAMADOV Pamukkale Üniversitesi / Türkiye
Prof. Dr. Mehmet Serdar GÜLTEKİN Atatürk Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Daniyal ISRAFILOV Balıkesir Üniversitesi / Türkiye
Prof. Dr. Ekrem ATALAN İnönü Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Urfat NURİYEV Ege Üniversitesi / Türkiye
Prof. Dr. Refik ABDULLA Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Abdülvahabova SACİDE University of Baku State / Azerbaijan
Prof. Dr. Güleray AĞAR Atatürk Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Goayev NİFTALİ University of Baku State / Azerbaijan
Prof. Dr. Esvet AKBAŞ Yüzüncü Yıl Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Agamaliyev FARZALİ University of Baku State / Azerbaijan
Prof. Dr. Cevat SELAM Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Prof. Dr. Harun POLAT Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Prof. Dr. Giray TOPAL Atatürk Üniversitesi / Türkiye	Doç. Dr. Nevzat ESİM Bingöl Üniversitesi / Türkiye
Prof. Dr. İshak BİLDİRİCİ Yüzüncü Yıl Üniversitesi / Türkiye	Dr. Tomasz JAROZS Silesian University of Technology / Poland
Doç. Dr. Arzu ALA GÖRMEZ Atatürk Üniversitesi / Türkiye	Doç. Dr. Harun POLAT Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Doç. Dr. Ersin KILINÇ Mardin Artuklu Üniversitesi / Türkiye	Dr. Santosh Kumar BHARDWAJ Jiwaji University / India
Doç. Dr. Banu Bayram Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi / Türkiye	Dr. Bamidele Joseph OKOLİ Vaal University of Technology / South Africa
Doç. Dr. Cezmi KAYAN Dicle Üniversitesi / Türkiye	Dr. Marcelo MURGUIA Universidad de Valencia/Spain
Doç. Dr. Tarık ARAL Batman Üniversitesi / Türkiye	Dr. Muhsin İNCESU Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Doç. Dr. Refik SAMET Ankara Üniversitesi / Türkiye	Dr. Murat SÜNKÜR Batman Üniversitesi / Türkiye
Doç. Dr. Ekrem YILMAZ Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. Deniz Barış CEBE Batman Üniversitesi / Türkiye
Doç. Dr. Talat KÖRPİNAR Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Doç. Dr. Nevin TURAN Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Dr. Fırat KURT Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. İbrahim DOLAK Dicle Üniversitesi / Türkiye
Dr. Murat DEMİR Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Mohammed Faraz KHAN Jamia Hamdard University/ India
Dr. Selçuk SAĞIR Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. Salih ÖZER Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Prof. Dr. Murat AYDEMİR Dicle Üniversitesi / Türkiye	Dr. Hüseyin ALLAHVERDİ Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Dr. Erdal KORKMAZ Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. Fuat YETİŞSİN Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Doç. Dr. Muhammed ÇINAR Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. Yusuf ALAN Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Dr. Adem KORKMAZ Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. Kenan BULDURUN Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye
Dr. Ramazan ATICI Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye	Dr. Ahmet SAVCI Muş Alparslan Üniversitesi / Türkiye

İÇİNDEKİLER • CONTENTS

DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Ömer Aydın* 871-878
Sığırların Solunum Sistemi Hastalığı Kompleksi
Bovine Respiratory Disease Complex

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Tayfun ABUT, Servet SOYGÜDER* 879-885
Motion Control and Analysis of Delta-type a Parallel Robot
Delta Tipi Bir Paralel Robotun Hareket Kontrolü ve Analizi

- Mehmet Eşref ALKIŞ, Yusuf ALAN* 887-890
Elektroporasyon İşlemi Sırasında Oluşan Hücre Ölümünde Darbe Frekansının Önemi
The Importance Of Pulse Frequency in Cell Death During Electroporation Process

- Sedat BOZARI, Güleray AĞAR, Derya EFE, Ömer BİNGÖL* 891-897
An overview of the cytological, physiological, genetic and morphological effects of
Mentha longifolia essential oil
Mentha Longifolia Esansiyel Yağlarının Sitolojik Fizyolojik Genetik ve Morfolojik
Etkilerine Genel Bir Bakış

Okuyucu Mektupları / Letters


Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi'nde yayımlanan çalışmalar hakkındaki değerli görüşlerinizi, yorumlarınızı ve önerilerinizi lütfen dergi editörüne iletiniz.

Doç. Dr. Adnan ÇETİN
a.cetin@alparslan.edu.tr

Sığırların Solunum Sistemi Hastalığı Kompleksi

Ömer Aydın¹

¹ Klinik Bilimler Bölümü, Veteriner Fakültesi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

✉: aydinomer@atauni.edu.tr,  0000-0001-9444-1904

Geliş (Received): 01.08.2021

Düzeltilme (Revision):13.09.2021

Kabul (Accepted): 07.10.2021

ÖZ

Sığırların solunum sistemi hastalığı stres, viral, bakteriyel, çevresel ve hayvana ait faktörleri kapsayan multifaktöriyel sebeplerden oluşabilmektedir. Enfeksiyon etkenlerinden viral etkenleri *Herpes virüs-1*, *Parainflüenza virüs 3*, *Bovine respiratuar sinsityal virüs*, *Bovine viral diyare virüs* oluştururken, bakteriyel etkenleri *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* ve *Mycoplasma bovis* oluşturmaktadır. İyi besleme, hastalıklara karşı aşılama, stres faktörlerini azaltma ve hava sirkülasyonunu düzenleme sığırlarda solunum sistemi hastalıkları riskini azaltmada önemli faktörlerdir. Tedavide daha çok tetrasiklin, florokinolon, seftiofur, tilmikosin ve tulatromisin gibi makrolid antibiyotikler kullanılmaktadır. Ayrıca destekleyici tedavide nonsteroid ve steroid türevli antiinflamatuvar ilaçlar da kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Pnömoni, Sığır solunum sistemi kompleksi, Solunum patojenleri

Bovine Respiratory Disease Complex

ABSTRACT

Bovine respiratory disease can be caused by multifactorial causes including stress, viral, bacterial, environmental and animal factors. Among the infectious agents, while viral agents are *Herpes virus-1*, *Parainfluenza virus 3*, *Bovine respiratory syncytial virus*, *Bovine viral diarrhea virus*, bacterial agents are *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* and *Mycoplasma bovis*. Good nutrition, vaccination against diseases, reducing stress factors and regulating air circulation are important factors in reducing the risk of respiratory diseases in cattle. Tetracycline, fluoroquinolone, ceftiofur and macrolide antibiotics such as tilmicosin and tulathromycin are used in the treatment. In addition, nonsteroidal and steroid-derived anti-inflammatory drugs are used in supportive therapy.

Keywords: Bovine respiratory disease complex, pneumonia, respiratory pathogens

GİRİŞ

Sığırların solunum sistemi hastalığı kompleksi (BRDC) dünya genelinde sığırlardaki ölüm ve solunum yolu hastalıklarının başlıca sebebidir [1]. BRDC olan sığırlarda ateş, solunum güçlüğü, sık sık tekrarlayan öksürük, nazal ve gözyaşı akıntısı, diyare, dehidrasyon, iştah kaybı gibi semptomlar görülebilmektedir [2]. Genç yaşta süten kesilmiş besi danaları hastalığa en duyarlı olan hayvanlardır. Genellikle hayvanların sıkışık bir şekilde bir arada bulunması, damgalanması, küpelenmesi, iç parazit ve aşılama uygulamalarının yapılmaması, boynuz yakma gibi işlemler BRDC gelişmesine neden olabilmektedir [3]. Hastalığın erken teşhisi hastalığın ilerlemesini ve tedaviden kaynaklı finansal maliyeti azaltmak ve ayrıca hayvan kayıplarını önlemek için gerekli bir unsurdur. Hastalığın erken teşhisi ile, hasta hayvanlara daha iyi bir yaşam kalitesi sağlanması, tedaviye daha hızlı bir cevap ve morbidite oranının daha düşük olmasını sağlayabilir [4]. Sığırların solunum sistemi hastalığı kompleksi stres, viral ve bakteriyel patojenler ve konakçının immun sistemini kapsayan multifaktöriyel sebeplerden dolayı

şekillenen bir hastalık durumudur. Bu hastalığa karşı aşılar ve antibiyotikler uygulanmasına rağmen sığırlarda yüksek morbidite ve mortalite oranıyla halen güncelliğini korumaktadır [5]. Hastalığın patogeneğinde rol oynayan etkenleri çevresel, enfeksiyöz ajanlar ve hayvana ait faktörler olarak üç grup altında toplamak mümkündür [6]. Bu çalışmada BRDC hastalığında etiyoloji, prevalans, patogenezi, klinik bulgular, tanı, nekropsi bulguları, aşılama, tedavi ve korunmaya yönelik geniş çaplı ayrıntılı bilgilerin verilmesi amaçlanmıştır.

Hastalığın Patogeneğinde Rol Oynayan Etkenler (Etiyoloji)

Hayvana ait olan faktörler

Diğer hayvan türlerine göre sığırların akciğerlerindeki ölü boşluk hacminin bulunması kısmi bir obstrüksiyonla alveolar hipoventilasyon riskini ve akciğerlere dağılacak olan oksijenin miktarını etkileyebilmektedir. Akciğerde intravasküler makrofajların varlığı ve gamma-delta T lenfositlerin kan sirkülasyonundaki yüksek oranı sığırları pnömoniye yatkın kılan anatomik, fiziksel ve immünolojik özelliklerdir [7].

Çevresel etkenler

Ekstrem hava şartları, yağışın azalması veya aşırı yağış, çok yüksek hava sıcaklığı, yoğun fırtınalar gibi durumlar BRDC oluşmasına sebep olan çevresel etkenler olarak sıralanabilir [8].

Enfeksiyöz ajanlar

Sığırların solunum sistemi hastalığı kompleksine neden olan viral etkenler *Bovine herpes virüs-1* (BHV-1), *Parainflüenza virüs tip-3* (PI-3), *Bovine respiratuar sinsityal virüs* (BRSV), *Bovine viral diyare virüs* (BVDV) olup [9], bakteriyel etkenler ise *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* ve *Mycoplasma bovis* olarak sıralanabilir [10].

Bovine herpes virüs-1

Bovine herpes virüs-1 solunum sistemi hastalıkları, abort, dişi hayvanlarda vulva vajinitis, erkeklerde balanopostitise ve ayrıca konjunktivitis ve neonatal ölümlere neden olan alfa herpesvirüs ailesine ait bir virüs tipidir [11]. Antijenik ve genomik farklılıklara sahip olan 3 farklı tip BHV tipi tanımlanmıştır. Merkezi sinir sistemi semptomları gösteren başka bir BHV tipi sığırlarda belirlenmiştir. Bu yeni virüs tipi BHV-1 ile benzer antijenik yapılar göstermesine rağmen farklılıklar da içerdiği için BHV-1.3 olarak isimlendirilmiştir. BHV-1 ile akut enfeksiyondan iyileşen hayvanlarda virüsün nöral dokularda ya latent seyrettiği ya da bu dokularda tahribat oluşturduğu kolayca görülebilir [12]. BHV-1 tip-2a hastalığın solunum formuna (İnfeksiyöz bovine rhinotracheitis (IBR)) sebep olmaktadır. BHV-1 2b alt tipide enfeksiyöz püstüller vulvovajinitis veya enfeksiyöz püstüller balanopostitise neden olmaktadır [13]. Sığırlarda IBR hastalığında nazal akıntı, öksürük, ateş, apati, anoreksi gibi bulguların şekillendiği ifade edilmiştir [14]. Zajac ve ark., [15] sığır herpes virüs tip-5' in sığırların beyninin trigeminal ganglionlarında yerleşebileceğini, klinik bulgu olarak inkoordinasyon, kas tremorları, körlük, kendi etrafında dönme, başını dayama, çırpınma hareketleri ve sonuçta ölümcül tarzda seyreden meningoensefalitise neden olabileceğini belirtmişlerdir. Gratzek ve ark., [16] ise virüsün buzağılarda diyareye neden olduğunu bildirmişlerdir. BHV-1 enfeksiyonuna karşı modifiye canlı virüs aşısı (MLV), inaktif, subunit ve markır aşuların mevcut olduğu bildirilmiştir [17].

Bovine viral diyare virüs

Bovine viral diyare virüsü flaviridae virüs ailesine ait pestivirüs üyesi olan bir RNA virüsüdür [18]. BVDV tip-1 ve tip-2 diye adlandırılan iki farklı genotipe ayrılmaktadır. Ayrıca Mishra ve ark., [19] tarafından Hobi-like pestivirüs diye adlandırılan pestivirüs cinsine ait BVDV-3 (pestivirüs H) tanımlanmıştır. Tip-1 genotipi kendi içinde 21 alt tipe ve tip-2 ise 4 alt tipe ayrılmaktadır [20]. Yine tip-1 ve tip-2 de ileri bir sınıflandırmayla sitopatik ve sitopatik olmayan olarak iki gruba ayrılmaktadır [21]. BVDV mortalite, morbidite, prematüre doğumlar, uzamış doğum aralığı,

abort, zayıf ve doğumsal defektli buzağılara neden olduğu için dünya çapında ekonomik olarak en önemli hastalıklardan biri olarak görülmektedir [22]. BVDV solunum, sindirim, reproduktif ve immun sistem gibi farklı sistemleri etkileyen bir hastalıktır. Öksürük, nazal akıntı, diyare, immunsupresyon, persiste enfekte buzağı (PI) veya abortlara neden olmaktadır. PI hayvanlar BVDV' ye karşı immuntoleranslıdır ve onların yaşamları boyunca virüs saçarlar. Böylece sürüdeki diğer sağlıklı hayvanlar içinde bulaş kaynağı olurlar [23]. BVDV enfeksiyonunun klinik görünümü virüs suşuna, hayvanın immun durumuna, enfeksiyon zamanındaki gebelik dönemine bağlıdır [24]. Gebeliğin yaklaşık olarak 45-125. gününde sığırların BVDV ile enfekte olması PI enfekte buzağı doğumuyla sonuçlanabilmektedir [25]. Gebeliğin 50 ile 100 günü arasındaki fötüsün transplasental enfeksiyonu fötüsün ölümüyle sonuçlanabilir [26,27]. Abortun şekillenmesi fötüsün enfekte olmasından sonraki günlerden aylara kadar uzayan bir süreç içerisinde oluşabilir [28]. BVDV enfeksiyonu buzağılarda önemli bir şekilde teratojenik etkiye sahiptir. Gebeliğin 100-150 günleri arasında şekillenen transplasental enfeksiyon birçok konjenital defekte sonuçlanabilir [26]. Bu konjenital defektler mikroensefalopati, serebellar hipoplazi, hidroensefali, hidrosefalus, retinal atrofi ve displazi, optik sinir nörit, katarakt, mikrooftalmi, timik hipoplazi, alopesi, alt çene kısısalığı, büyümede gerileme, artrogripozis, pulmoner hipoplazi olarak sıralanabilir [29]. Taghipour ve ark., [30] BVDV bulunan neonatal iki buzağıda tremorların varlığını belirlemişlerdir. Peterhans ve ark., [31] bazı BVDV ile hastalık durumlarında epistaksis, hifema, mukozal hemoraji, enjeksiyon bölgesinde kanama, kanlı bir ishal gibi klinik semptomlar gösteren trombositopenik sendromun şekillenebileceğini ifade etmişlerdir. Hastalığın mukozal hastalık formunun genellikle 6 aylık ile 2 yaşlı sığırlarda görüldüğü, sürü genelinde yüksek morbidite ve mortalite oranına sahip olduğu bildirilmiştir [32]. Mukozal hastalık formunun akut halinde sığırlarda ateş, depresyon, halsizlik, anoreksi, kalp ve solunum frekansında artış şekillenir. Oral mukoza incelendiğinde dudaklar, diş etleri, dil, ağız kenarlarında, arka sert damak bölgesinde lezyonlar görülebilir. Çok sulu şekilde bir ishal klinik sinyallerin başlangıcından 2-3 gün sonra başlayabilir. İshal çok kötü kokulu ve kan ihtiva edebilir. Mukozal hastalık formunun kronik formunda da iştahsızlık, kilo kaybı, ileri düzeyde zayıflama görülebilir. İshal aralıklı ya da sürekli olabilir. Ayrıca bu formda kronik bir timpanide görülebilmektedir [29]. Chase ve ark., [33] BVDV' nin immunsupresif etkisiyle *Mannheimia haemolytica* ve *Pasteurella multocida* gibi sekonder bakteriyel enfeksiyonların patojenite kazanarak BRDC' ye sebep olduğunu belirtmişlerdir. Bu immunsupresif etkinin de interferon üretimi, fagositozis, kemotaktik ve mikrobiyel aktivite gibi kalıtsal immun sistemin birçok farklı bileşenini etkilediğini ifade etmişlerdir.

Parainflüenza virüs tip-3

Paramyxovirüs ailesinin bir üyesi olan sığır PI-3 BRDC' ye sebep olan en önemli patojenlerden birisidir[34]. Sığırlarda hastalığın semptomları olarak anoreksi, öksürük, ateş, solunum güçlüğü ve bazı durumlarda ishalde görülebilmektedir. IP-3 virüsünün immunsupresif etkileri vardır ve genellikle primer viral ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlarla birlikte seyredebileceğinden bronşial pnömoniye neden olabilmektedir [35,36]. Irsik ve ark., [37] PI-3 enfeksiyonuna sahip sığırlarda klinik belirti olarak öksürük, iştahsızlık, yüksek ateş, nazal ve oküler akıntılar, dispnö ve bazende ishalin şekillenebileceğini belirtmişlerdir. Maidana ve ark., [38] PI-3' ün stresli buzağılarda sekonder enfeksiyonlara neden olarak akciğer dokusunda doku zararı ve immunsupresyona neden olduğunu belirtmişlerdir. PI-3' ün 3 farklı tipi (tip 3a, 3b ve 3c) tanımlanmıştır [39]. PI-3 sığır, koyun, keçi ve deve gibi ruminantlarda enfeksiyona neden olabilmektedir. PI-3 ile enfekte olan sığırlarda diğer viral ve bakteriyel enfeksiyonlar ile mix enfeksiyon şekillenebilmektedir. Bu da PI-3 virüsünün immunsupresif ve sekonder enfeksiyonlara neden olabileceğini göstermektedir [40].

Respiratuar sinsityal virüs

Buzağılarda respiratuar sinsityal virüs solunum sistemi hastalıklarının önemli bir sebebidir ve BRDC' ye neden olmaktadır [41]. BRSV, Paramyxoviridae familyasına ait olan Pneumovirinae alt ailesindeki Pneumovirüs cinsine ait zarflı, bölümlenmemiş, üst ve alt solunum yollarına affinitesi olan negatif sarmallı bir RNA virüsüdür. Hastalığın klinik seyri olarak buzağılarda rinitis, laringofarenjit, trakeobronşit ve hastalığın ilerleyen aşamalarında akciğerlerde hırıltılı bir şekilde bronşit, taşipnö ve öksürük görülebilmektedir. Ayrıca buzağılarda ateş, anoreksi ve depresyon hali de bulunmaktadır [42]. Baker ve ark., [43] BRSV enfeksiyonu bulunan sığırlarda hastalık ilerledikçe dispnönün şiddetinin arttığını, ağzı açık solunumun şekillendiğini ve geçici bir diyarenin oluşabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca akciğerlerde amfizemin varlığıyla oskültasyonda bronşial ve bronkoveziküler seslerin duyulabileceğini, hastalığın şiddetinin artması sonucu akciğer alveollerinde rupturun şekillenmesiyle omuz ve sırt bölgelerinde amfizemin oluşabileceğini ifade etmişlerdir. Sığırlar esas rezervuar olmasına rağmen koyunlarda bu virüsle enfekte olabilmektedir [44]. Sürü içerisindeki bulaşma genel olarak aerosol yolla olmaktadır [45]. Bunun yanısıra hayvanlar arasında direkt yayılım yeni hasta hayvanların sürüye girişiyle oluşmaktadır. BRSV için büyük risk faktörleri çok amaçlı çiftlik işletmeleri ve çiftlikte dolaşan insanların etkeni taşınmaları olarak sıralanabilir [46].

Mannheimia haemolytica ve Pasteurella multocida

Pasteurella ailesinin iki üyesi olan *Mannheimia haemolytica* ve *Pasteurella multocida* sığırlarda solunum sistemi hastalıklarının önemli bakteriyel etkenlerindedir [47]. *Mannheimia haemolytica* ve *Pasteurella multocida* sığırların nazofrangeal

bölgesinde bulunan ve hastalık oluşturmeyen bakteri tipleridir. Ancak stres ve viral enfeksiyon gibi hastalık durumlarından sonra bu etkenler üst solunum yollarında çoğalmaya başlarlar ve akciğerlerde kolonize olmak için göç ederler. Akut fibrinöz pleuropnömoni *Mannheimia haemolytica* tarafından sebep olunan pnömoni tipidir. Suppuratif pnömoni ise daha çok *Pasteurella multocida* ile ilişkilendirilmektedir [48]. Wilson ve ark., [49] *Pasteurella multocida* ile enfekte sığırlarda ateş, ödem, solunum güçlüğü, septik şok ve yaygın hemorajiler şekillenebileceğini ve ayrıca enfeksiyon belirtilerinin görülmesiyle ölümün perakut ve mortalite oranının yaklaşık olarak % 100' e kadar ulaşabileceğini belirtmişlerdir.

Histophilus somni

Histophilus somni gram negatif, üremesi zor olan pleomorfik basil veya kokobasil olan Pasteurella ailesine ait bir bakteri türüdür [50]. Sığırlarda *Histophilus somni* ile direkt veya diğer fırsatçı virüs ya da bakterilerin varlığıyla enfeksiyon gelişebilmektedir. Kalabalık ahırlarda bakılan sığırlarda, kötü havalandırmaya sahip ahırlarda bakılan ve kötü bakım besleme yapılan sığırlarda hastalığa eğilim artmaktadır [51]. *Histophilus somni* BRDC' ye ilaveten sığırlarda infertilite, septisemi, abort, myokarditis, artritis, menigoensefalitise ayrıca koyunlarda, bizon ve Amerika yaban koyunlarında solunum hastalıklarına neden olabilmektedir [52,53]. Confer ve ark., [54] sığırlarda miyokarditis ve tromboembolik menigoensefalitis sebebiyle ani ölümlerin şekillenebileceğini belirtmişlerdir. *Histophilus somni* ile hastalığın virülens faktörleri lipooligosakkarit, immunglobulin bağlayıcı protein, dış membran proteinleri ve ekzopolisakkaritlerdir. Bu etkenle histamin üretimi de aynı zamanda hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır [55].

Mycoplasma bovis

Mycoplasma bovis sığırlarda birçok hastalığa neden olarak ekonomik kayıplara sebep olan bakteriyel bir ajandır. *Mycoplasma bovis* ile poliartirit sendrom ve kronik pnömoni şekillenmesinden dolayı BRDC ile ilişkilidir [56]. Mikoplazma türlerinin hücre duvarı bulunmaz ve ayrıca yüzey antijenleri gibi özelliklere sahip olan çok çeşitli sitoplazmik membran proteinlerine sahiptirler [57]. Mastitisli sütçü sığırlarda diğer mikoplazma türleri etkilenmiş hayvanların sütünden izole edilmesine rağmen muhtemelen en önemli etken *Mycoplasma bovis*' tir [58]. *Mycoplasma bovis* pnömonisi genellikle hafiftir ve tedavi edilemeyecek kadar ilerleyene kadar hastalığın tanısı zor olabilmektedir. Buzağılarda otitis media sonucu kafa sallama, pnömoni ve arasısına da meningitis bulguları *Mycoplasma bovis* enfeksiyonunun erken tanısallı belirtileridir [59]. Kanda ve ark., [60] ile Alberti ve ark., [61] *Mycoplasma bovis*' in sığırlarda enfeksiyöz keratokonjunktivitise, suppuratif otitis mediaya, meningitise, dekubit bölgesinde abse oluşumlarına, endokarditise ve reproduktif hastalıklara neden

olabileceğini belirtmişlerdir. Gondaira ve ark., [62] *Mycoplasma bovis*' in T lenfosit tükenmesine neden olduğu için immunsupresif bir etkisinin olduğunu ifade etmişlerdir. Benzer bir şekilde Sajiki ve ark., [63] *Mycoplasma bovis*' in yardımcı T lenfosit fonksiyonlarını suprese ettiğini ve lenfositlerde apoptozise neden olduğunu belirtmişlerdir.

Dünya' da ve Türkiye' deki Prevalans Çalışmaları

Studer ve ark., [64] 764 adet İsviçre esmeri buzağı üzerinde yaptıkları bir çalışmada BRDC ile ilişkili olan viral etkenlerin prevalansını araştırmışlardır. Bu çalışmaya göre BRSV' yi % 2.1, IP-3' ü % 3.3, sığır coronavirüsü % 53.5, influenza D virüsü % 4.1, influenza C virüsü ise % 0 oranında belirlemişlerdir. Paller ve ark., [65] solunum sistemi hastalığına sahip sığırlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada nazal svap örneklerinden alınan numunelerde *Pasteurella multocida*' nın % 58.65, *Mannheimia haemolytica*' nin % 15.04, *Mycoplasma bovis* ve *Histophilus somni*' nin % 9.77 oranında bulunduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada BRSV' nin % 40.60, sığır coronavirüsünün % 12.03, PI-3' ün % 3.01, BVDV' nin ise % 1.50 oranında bulunduğunu belirlemişlerdir. Vallejo tarafından 1093 adet sığırdaki BVDV' nin prevalansının araştırıldığı bir çalışmada ise BVDV tip1b' nin % 70.2 oranında, BVDV tip1a' nın % 4.4, BVDV tip2a' nın ise % 17.8 oranında belirlendiğini ifade etmişlerdir [66]. Türkiyede Aslan ve ark., [67] tarafından 656 adet sığır üzerinde yapılan bir çalışmada ise BVDV, BHV-1 ve BHV-4 oranını sırasıyla % 70.89, % 41.3 ve % 28.78 olarak belirlemişlerdir. Gür Repeat Breeder sendromlu 139 adet sığır üzerinde yaptığı bir çalışmada BVD ve IBR düzeylerinin oranının sırasıyla % 58.2 ve % 7.2 olduğunu bildirmiştir [68].

Patogenez

Sığırların solunum sistemi hastalığı ile en yaygın ilişkide olan mikoplazmalar ve *Mannheimia haemolytica* gibi bakteriyel ajanların çoğu hastalık oluşturmaksızın sığırların nazofarengeal mukozasında bulunmaktadır [69]. Sağlıklı sığırlarda üst solunum yollarının kommensal mikroflorası ile patolojik özellikte olan bakteriler arasında çok hassas bir denge vardır. Buradaki immün sistemin ana unsurunu oluşturan mukus ve siliar epitelial hareketlerin görevi akciğer dokusuna patojen etkenlerin geçişini engellemektedir. BRDC hastalığının predispozisyon oluşturan etkenlerinin vasıtasıyla üst solunum yollarındaki bu koruyucu unsurların yapısı bozulmakta ve bu patojen etkenler alt solunum sistemine yerleşerek enfeksiyonu başlatabilmektedir [70].

Klinik Bulgular

Hastalığın klinik semptomları olayın akut veya kronik olmasına göre farklılık göstermektedir. BRDC' nin akut formunda kaba bir kıl örtüsü, mukoid veya mukopurulent okülönazal bir akıntı, taşipne görülebilmektedir. Üstelik bu formda sürekli bir öksürük semptomları oluşabilmektedir ve öksürüğün karakteri kuru, sert ve

bazende yaş öksürük tarzında şekillenebilmektedir. Akciğerlerin oskültasyonunda sertleşmiş sesler duyulabilir. Kronik formda ise bulgular belirsizdir. Buzağuların çevreye karşı ilgileri ve iştahları iyi olmasına rağmen hafif bir mukoid veya mukopurulent okülönazal akıntıya sahip olabilirler. Buzağuların vücut ısıları normal veya hafif derecede artış gösterebilir. Ayrıca ani şekilde başlayan sert bir öksürüğe de sahip olabilirler [71].

Tanı

Klinik tanı

Sığır solunum sistemi hastalığı kompleksinin tanısı çeşitli yöntemlerle yapılmaktadır. Klasik metod dışı bakı ve klinik skorlama yöntemiyle yapılmaktadır. Perino ve Apley tarafından geliştirilmiş bu yöntemde BRDC skorlaması halsizlik görünümü olmaksızın depresyonlu bir durum skor-1 olarak, yürüyüş önemli bir şekilde bozulmaksızın ılımlı bir halsizlik skor-2, belirli bir yürüyüş bozukluğu ve yoğun depresyon durumu için skor-3, ayağa kalkamama ve agoni hali ise skor-4 olarak sınıflandırılmıştır [72].

Hematolojik ve biyokimyasal bulgular

Önemli hematolojik bulgular lökositozis, nötrofili, fibrinojen ve akut faz protein konsantrasyonunda artış olarak görülmektedir [73]. BRDC ile ilgili biyokimyasal bulgular olarak ise fosfor, magnezyum, potasyum, demir, alkalin fosfatase seviyesinde düşme belirlenirken, bilirubin ve aspartat amino transferaz seviyelerinde artış şekillendiği belirlenmiştir [74].

Serolojik tanı

Bovine viral diyare virüs, BHV-1, PI-3, BRSV gibi bazı virüs türlerinin antijenleri ELISA metodu ya da izolasyon testleri kullanılarak tanımlanabilmektedir [75]. Ayrıca virüs nötralizasyon testi, immünohistokimya, kompleman fiksasyon testi, aglutinasyon testi, çoklu PCR testleri gibi testler de BRDC' yi belirlemek için kullanılmaktadır [76].

Tanısal görüntüleme

Radyografi ve ultrasonografi gibi tanısal görüntüleme prosedürleri sığır hekimliğinde çokça kullanılmaktadır. Her iki tanısal araçta pnömoninin antemortem tanısı için gerekli olan noninvaziv yöntemlerdir [77]. Sığırlarda akciğer hastalıklarının tanısında radyografinin kullanımı ekipman maliyeti, hayvanı zaptırap altına almak için anestezi madde kullanımı, radyasyona maruz kalma gibi durumlardan dolayı çok pratik bir işlem değildir. Günümüzde akciğer hastalıklarının tanısında ultrasonun kullanımı yaygınlaşmaktadır [78].

Flöck çeşitli akciğer hastalığına sahip olan sığırlarda yaptığı ultrason çalışmasında pulmoner ödemi hayvanlarda ultrason bulgusu olarak ekojenik karakterde çok sayıda yıldızlı kuyruk artefaktı alanlar olduğunu belirtmiştir. Yine aynı çalışmada bronkopnömoni bir sığırın torasik ultrasonunda akciğer yüzey alanında küçük bir hipoeoik karakterde bir bölge ve bu bölgenin distalinde de yine yıldızlı kuyruk artefaktının görüldüğünü ifade etmişlerdir.

Akciğer konsolidasyonunu belli bir alana yayılım gösteren hiperekoik tarzda bir ekojenite ve bu yapıyı karaciğer paranzimine benzer bir alan olarak tanımlamışlardır. Pleural effüzyona sahip bir sığırın akciğer ultrasonunda pleural yüzeyde düzensizlik ve göğüs duvarı ile pleural boşluk arasında hipoekoik ekojeniteye sahip serbest sıvı varlığını belirlemişlerdir [79].

Nekropsi Bulguları

Akut pnömoni durumunda üç farklı patolojik değişiklik şekillenmektedir. Birinci şeklinde pulmoner doku konsolidasyonu akciğerin kranial loblarında fark edilir ve bu dokular koyu kırmızı, gevrek kıvamda ve nekrozisin şekillenmesiyle kendini göstermektedir. İkinci şeklinde ise akciğerlerde belirgin bir konsolidasyon biçiminde yoğun kırmızı/gri hepatizasyon görünümü, nekroz ve irinli bir içerik şekillenmektedir. Üçüncü şeklinde interstisyel amfizem, pulmoner ödem, alveolar epitelyal hiperplazi ve hiyalin membran şekillenmesiyle karakterize konjesyon şekillenmektedir [80].

Aşılama

Sığır solunum sistemi hastalığı kompleksine karşı modifiye canlı ve inaktif ölü aşılar kullanılmaktadır [81]. Stilwell ve ark., [82] yaptıkları bir çalışmada BRDC' ye karşı MLV ve inaktif şuşları içeren bir aşının (Risposal 4®, Pfizer, Belçika) kullanımıyla morbidite oranının % 75 oranında düştüğünü belirtmişlerdir. Wildman ve ark., [83] tip 1 ve tip-2 BVDV, IBR virüs içeren MLV aşlarıyla kombine olarak *Mannheimia haemolytica* ve *Pasteurella multocida* toksoidlerinin birlikte kullanılmasıyla ve bu aşı kombinasyonunun erken bir şekilde uygulanmasıyla (transport öncesi ve buzağuların süttten kesim dönemi öncesi) aşının etkinliğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Süttten kesim zamanında besi danalarının sadece MLV aşlarıyla ya da MLV aşlarıyla birlikte *Mannheimia haemolytica* ve *Pasteurella multocida*'nın bakterin/toksoid aşlarıyla birlikte kullanılmasının inaktif aşılarla kıyasla BRDC' ye bağlı morbidite ve mortalite oranını daha yüksek bir oranda düşürdüğü rapor edilmiştir [84].

Tedavi

Antibiyotik tedavisi ağzı açık solunum, laktatemi ve siyanoz durumu şekillenmeden önce başlatılmalıdır. En çok kullanılan antibiyotikler arasında uzun etkili olan tekrasiklinler (oksitetrasiklin 20 mg/kg, canlı ağırlık (CA), i.m.), makrolidler (tulatromisin 2,5 mg/kg, CA, s.c.), florokinolonlar (enrofloksasin 7,5 mg/kg, CA, s.c.) yer almaktadır. Nebulize olarak 1 mg/kg dozda seftiour kullanımını buzağularda solunum sistemi hastalığının tedavisinde etkilidir. Steroid türevi ilaçlardan betametazon (2-10 mg/hayvan başına), deksametazon (2-5 mg/hayvan başına), prednizolon (hayvan başına 20 mg' a kadar), kortizon (hayvan başına 500 mg' a kadar), hidrokortizon (hayvan başına 300 mg' a kadar), flumetazon (0.5 mg/hayvan başına) ve trimsinolon (hayvan başına 5 mg' a kadar) kullanılabilir. Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlardan flunixin meglumin (2,5 mg/kg CA), karprofen (1,4 mg/kg CA, i.v., s.c.), ketoprofen (3 mg/kg CA, i.v., i.m.), meloksikam (0,5 mg/kg CA, s.c., i.v.), tolfenamik asit (2 mg/kg CA, i.m.) ve metamizol sodyum (10-50 mg/kg CA, i.m., i.v.) kullanılmaktadır. Ekspektoran olarak sığırlarda bromheksidin kullanılmaktadır. BRDC' de bronkodilatör olarak en sıklıkla atropin sülfat (0,06 mg/kg, s.c.) ve teofilin (1-10 mg/kg yavaş bir şekilde i.v./s.c. yolla) kullanılmaktadır. Pulmoner ödem varlığında ise en sık kullanılan diüretik olan furosemid 1 mg/kg CA dozunda i.v. yolla kullanılmaktadır [71].

Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlardan flunixin meglumin (2,5 mg/kg CA), karprofen (1,4 mg/kg CA, i.v., s.c.), ketoprofen (3 mg/kg CA, i.v., i.m.), meloksikam (0,5 mg/kg CA, s.c., i.v.), tolfenamik asit (2 mg/kg CA, i.m.) ve metamizol sodyum (10-50 mg/kg CA, i.m., i.v.) kullanılmaktadır. Ekspektoran olarak sığırlarda bromheksidin kullanılmaktadır. BRDC' de bronkodilatör olarak en sıklıkla atropin sülfat (0,06 mg/kg, s.c.) ve teofilin (1-10 mg/kg yavaş bir şekilde i.v./s.c. yolla) kullanılmaktadır. Pulmoner ödem varlığında ise en sık kullanılan diüretik olan furosemid 1 mg/kg CA dozunda i.v. yolla kullanılmaktadır [71].

Korunma

Sığırlarda solunum sistemi hastalığının kontrolünde iyi besleme, aşılama ve stres faktörlerini azaltma, biyogüvenlik kurallarına uyma ve yeterli hava sirkülasyonunun sağlanması önemli etmenlerdir [85]. BRDC' yi önlemek için şu anki mevcut aşuların teknolojilerinde yeni gelişmeler sürmektedir [86]. Sığırların tek bir işletmeden satın alınması ve kuruya ayrıldığı zamanın bilinmesi patojenlere maruz kalmayı en aza indirmede ve bağışıklık sisteminin sürdürülmesinde önemlidir. Sığır yetiştiriciliğinin doğru bir şekilde yönetimi stres durumlarını azaltmak, bakteriyel ve viral hastalıklara karşı bağışıklığın sürdürülmesi açısından önemlidir [1].

SONUÇ

Sığırlarda solunum sistemi hastalıkları büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. BRDC hastalığının etiolojisinde birçok faktör etkili olduğundan sığırlarda solunum sistemi hastalığının kontrolü ve tedavisi zorlaşmaktadır. Bu yüzden tedavi ve aşılama kadar stres koşullarını en aza indirmek için hastalığın etiolojisinde rol oynayan çevresel faktörler ve özellikle buzağuların barınma ve beslenme şartlarının da düzenlenmesi hastalığın önlenmesinde büyük bir öneme sahiptir.

KAYNAKÇA

- [1] Edwards T.A. Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 26 273-284, 2010.
- [2] Guterbock W.M. The impact of BRD: The current dairy experience, Animal Health Research Reviews, 15 130134, 2014.
- [3] Wikse S.E. Feedlot cattle pneumonia, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 1 289-310, 1985.
- [4] Adams E.A., Buczinski S. Short communication: Ultrasonographic assessment of lung consolidation postweaning and survival to the first lactation in dairy heifers, Journal of Dairy Science, 99 1465-1470, 2016.
- [5] McGill J.L., Sacco R.E. The immunology of bovine respiratory disease: Recent advancements, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 36 333348, 2020.

- [6] Mosier D. Review of BRD pathogenesis: The old and the new, *Animal Health Research Reviews*, 15 166-168, 2014.
- [7] Ackermann M.R., Derscheid R., Roth J.A. Innate immunology of bovine respiratory disease, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26 215228, 2010.
- [8] Coumou D., Rahmstorf S.A decade of weather extremes, *Nature Climate Change*, 2 491-496, 2012.
- [9] Grissett G.P., White B.J., Larson R.L. Structured literature review of responses of cattle to viral and bacterial pathogens causing bovine respiratory disease complex, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29 770-780, 2015.
- [10] Panciera R.J., Confer A.W. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26 191-214, 2010.
- [11] Jones C., Chowdhury S.A review of the biology of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1), its role as a cofactor in the bovine respiratory disease complex and development of improved vaccines, *Animal Health Research Reviews*, 8 187-205, 2007.
- [12] Bryant T.C., Rogers K.C., Stone N.D., Miles D.G. Effect of viral respiratory vaccine treatment on performance, health and carcass traits of auction-origin feeder steers, *The Bovine Practitioner*, 42 98-103, 2008.
- [13] Raaperi K., Orro T., Viltrop A. Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe, *The Veterinary Journal*, 201 249-256, 2014.
- [14] Nettleton P., Russell G. Update on infectious bovine rhinotracheitis, *In Pract*, 39 255-272, 2017.
- [15] Zajac M.P.D.M., Ladelfa M.F., Kotsias F., Muylkens B., Thiry J., Thiry E., Romera S.A. Biology of bovine herpesvirus 5, *The Veterinary Journal*, 184 138-145, 2010.
- [16] Gratzek J.B., Peter C.P., Ramsey F.K. Isolation and characterization of a strain of infectious bovine rhinotracheitis virus associated with enteritis in cattle: Isolation, serologic characterization, and induction of the experimental disease, *American Journal Veterinary Research*, 27 1567-1572, 1966.
- [17] Nandi S., Kumar M., Manohar M., Chauhan R.S. Bovine herpes virus infections in cattle, *Animal Health Research Reviews*, 10 85-98, 2009.
- [18] Smith D.B., Meyers G., Bukh J., Gould E.A., Monath T., Scott Muerhoff A., Pletnev A., Rico-Hesse R., Stapleton J.T., Simmonds P., Becher P. Proposed revision to the taxonomy of the genus pestivirus, family flaviviridae, *The Journal of General Virology*, 98 2106-2112, 2017.
- [19] Mishra N., Rajukumar K., Pateriya A., Kumar M., Dubey P., Behera S.P., Verma A., Bhardwaj P., Kulkarni D.D., Vijaykrishna D., Reddy N.D. Identification and molecular characterization of novel and divergent Hobilike pestiviruses from naturally infected cattle in India, *Veterinary Microbiology*, 174 239-246, 2014.
- [20] Yesilbag K., Alpaz G., Becher P. Variability and global distribution of subgenotypes of bovine viral diarrhoea virus, *Viruses*, 9:6 128, 2017.
- [21] Ammari M., McCarthy F.M., Nanduri B., Pinchuk L.M. Analysis of bovine viral diarrhoea viruses-infected monocytes: Identification of cytopathic and noncytopathic biotype differences, *BMC Bioinformatics*, 11:6 1-13, 2010.
- [22] Richter V., Lebl K., Baumgartner W., Obritzhauser W., Kasbohrer A., Piniör B. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection, *The Veterinary Journal*, 220 8087, 2017.
- [23] Lanyon S.R., Hill F.I., Reichel M.P., Brownlie J. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis, *The Veterinary Journal*, 199 201-209, 2014.
- [24] Givens M.D., Marley M.S., Jones C.A., Ensley D.T., Galik P.K., Zhang Y., Riddell K.P., Joiner K.S., Brodersen B.W., Rodning S.P. Protective effects against abortion and fetal infection following exposure to bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus 1 during pregnancy in beef heifers that received two doses of a multivalent modified-live virus vaccine prior to breeding, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241 484-495, 2012.
- [25] Falkenberg S.M., Bauermann F.V., Ridpath J.F. Characterization of thymus-associated lymphoid depletion in bovine calves acutely or persistently infected with bovine viral diarrhoea virus 1, bovine viral diarrhoea virus 2 or Hobi-like pestivirus, *Archives of Virology*, 162 3473-3480, 2017.
- [26] Duffell S.J., Harkness J.W. Bovine virus diarrhoea mucosal disease infection in cattle, *The Veterinary Record*, 117 240-245, 1985.
- [27] Sprecher D.J., Baker J.C., Holland R.E., Yamini B. An outbreak of fetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhoea virus, *Theriogenology*, 36 597-606, 1991.
- [28] Kahrs R.F. Viral diseases of cattle, Ames, Iowa State University Press, 1981.
- [29] Baker J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11 425-445, 1995.
- [30] Taghipour B.T., Khodakaram T.A., Mousakhani F., Nekouie J.O.A. Occurrence of congenital tremor in holstein calves due to infection with BVDV in two industrial dairies from Tehran and Kerman Provinces (case report), *Scientific-Research Iranian Veterinary Journal*, 7 92-96, 2011.
- [31] Peterhans E., Jungi T.W., Schweizer M. BVDV and innate immunity, *Biologicals*, 31 107-112, 2003.
- [32] Scharnbock B., Roch F.F., Richter V., Funke C., Firth C. L., Obritzhauser W., Baumgartner W., Kasbohrer A., Piniör B. A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population, *Scientific Reports*, 8:1 1-15, 2018.
- [33] Chase C.C., Thakur N., Darweesh M.F., Morarie-Kane S.E., Rajput M.K. Immune response to bovine viral diarrhoea virus-looking at newly defined targets, *Animal Health Research Reviews*, 16 4-14, 2015.
- [34] Leal E., Liu C., Zhao Z., Deng Y., Villanova F., Liang L., Li J., Cui S. Isolation of a divergent strain of bovine parainfluenza virus type 3 (BPiV3) infecting cattle in China, *Viruses*, 11:6 489, 2019.
- [35] Ellis J.A. Bovine parainfluenza-3 virus, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26 575-593, 2010.
- [36] Sobhy N.M., Mor S.K., Bastawecy I.M., Fakhry H.M., Youssef C.R.B., Goyal S.M. Surveillance, isolation and complete genome sequence of bovine parainfluenza virus type 3 in Egyptian cattle, *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 5 8-13, 2017.
- [37] Irsik M., Langemeier M., Schroeder T., Spire M., Roder J.D. Estimating the effects of animal health on the performance of feedlot cattle, *The Bovine Practitioner*, 40 65-74, 2006.
- [38] Maidana S.S., Lomonaco P.M., Combessies G., Craig M.I., Diodati J., Rodriguez D., Parreno V., Zabal O., Konrad J.L., Crudelli G., Mauroy A., Thiry E., Romera S.A. Isolation and characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Argentina, *BMC Veterinary Research*, 8:1 83, 2012.
- [39] Neill J.D., Ridpath J.F., Valayudhan B.T. Identification and genome characterization of genotype B and genotype C bovine parainfluenza type 3 viruses isolated in the United States, *BMC Veterinary Research*, 11 112, 2015.

- [40] Newcomer B.W., Neill J.D., Galik P.K., Riddell K.P., Zhang Y., Passler T., Velayudhan B.T., Walz P.H. Serologic survey for antibodies against three genotypes of bovine parainfluenza 3 virus in unvaccinated ungulates in Alabama, *American Journal of Veterinary Research*, 78 239-243, 2017.
- [41] Jim K. Impact of bovine respiratory disease (BRD) from the perspective of the canadian beef producer, *Animal Health Research Reviews*, 10 109-110, 2009.
- [42] Lebedev M., McEligot H.A., Mutua V.N., Walsh P., Carvallo Chaigneau F.R., Gershwin L.J. Analysis of lung transcriptome in calves infected with bovine respiratory syncytial virus and treated with antiviral and/or cyclooxygenase inhibitor, *PLoS One*, 16 e0246695, 2021.
- [43] Baker J.C., Ellis J.A., Clark E.G. Bovine respiratory syncytial virus, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 13 425-454, 1997.
- [44] Masot A.J., Kelling C.L., Lopez O., Sur J.H., Redondo E. In situ hybridization detection of bovine respiratory syncytial virus in the lung of experimentally infected lambs, *Veterinary Pathology*, 37 618-625, 2000.
- [45] Ohlson A., Emanuelson U., Traven M., Alenius S. The relationship between antibody status to bovine corona virus and bovine respiratory syncytial virus and disease incidence, reproduction and herd characteristics in dairy herds, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52:1 1-7, 2010.
- [46] Saa L.R., Perea A., Jara D.V., Arenas A.J., GarciaBocanegra I., Borge C., Carbonero A. Prevalence of and risk factors for bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in non-vaccinated dairy and dual-purpose cattle herds in Ecuador, *Tropical Animal Health and Production*, 44 1423-1427, 2012.
- [47] Beker M., Rose S., Lykkebo C.A., Douthwaite S. Integrative and conjugative elements (ICEs) in Pasteurellaceae species and their detection by multiplex PCR, *Frontiers In Microbiology*, 9 1329, 2018.
- [48] Welsh R.D., Dye L.B., Payton M.E., Confer A.W. Isolation and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens from bovine pneumonia: 1994-2002, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16 426-431, 2004.
- [49] Wilson B. A., Ho M. *Pasteurella multocida*: From zoonosis to cellular microbiology, *Clinical Microbiology Reviews*, 26 631-655, 2013.
- [50] Angen Ø., Ahrens P., Kuhnert P., Christensen H., Mutters R. Proposal of *Histophilus somni* gen. Nov., sp. Nov. For the three species incertae sedis '*Haemophilus somnus*', '*Haemophilus agni*' and '*Histophilus ovis*'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53 1449-1456, 2003.
- [51] Gagea M.I., Bateman K.G., van Dreumel T., McEwen B.J., Carman S., Archambault M., Shanahan R.A., Caswell J.L. Diseases and pathogens associated with mortality in ontario beef feedlots, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18 18-28, 2006.
- [52] Ward A.C.S., Weiser G.C., Anderson B.C., Cummings P.J., Arnold K.F., Corbeil L.B. *Haemophilus somni* (*Histophilus somni*) in bighorn sheep, *Canadian Journal of Veterinary Research*, 70 34-42, 2006.
- [53] Dyer N.W. *Haemophilus somni* bronchopneumonia in American bison (*Bison bison*), *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13 419-421, 2001.
- [54] Confer A.W. Update on bacterial pathogenesis in BRD, *Animal Health Research Reviews*, 10 145-148, 2009.
- [55] Corbeil L.B. *Histophilus somni* host-parasite relationships, *Animal Health Research Reviews*, 8 151-160, 2007.
- [56] Nicholas R.A., Ayling R.D. *Mycoplasma bovis*: Disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, 74 105-112, 2003.
- [57] Maunsell F.P., Chase C. *Mycoplasma bovis*: Interactions with the immune system and failure to generate an effective immune response, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 35 471-483, 2019.
- [58] Lysnyansky I., Freed M., Rosales R.S., Mikula I., Khateb N., Gerchman I., van Straten M., Levisohn S. An overview of *mycoplasma bovis* mastitis in Israel (2004-2014), *The Veterinary Journal*, 207 180-183, 2016.
- [59] Maunsell F.P., Donovan G.A. *Mycoplasma bovis* infections in young calves, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25 139-177, 2009.
- [60] Kanda T., Tanaka S., Suwanruengsri M., Sukmawinata E., Uemura R., Yamaguchi R., Sueyoshi M. Bovine endocarditis associated with *mycoplasma bovis*, *Journal of Comparative Pathology*, 171 53-58, 2019.
- [61] Alberti A., Addis M.F., Chessa B., Cubeddu T., Profiti M., Rosati S., Ruiu A., Pittau M. Molecular and antigenic characterization of a *Mycoplasma bovis* strain causing an outbreak of infectious keratoconjunctivitis, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18 41-51, 2006.
- [62] Gondaira S., Nishi K., Tanaka T., Yamamoto T., Nebu T., Watanabe R., Konnai S., Hayashi T., Kiku Y., Okamoto M., Matsuda K., Koiwa M., Iwano H., Nagahata H., Higuchi H. Immunosuppression in cows following intramammary infusion of *Mycoplasma bovis*, *Infection and Immunity*, 88 e00521-19, 2020.
- [63] Sajiki Y., Konnai S., Goto S., Okagawa T., Ohira K., Shimakura H., Maekawa N., Gondaira S., Higuchi H., Tajima M., Hirano Y., Kohara J., Murata S., Ohashi K. The suppression of Th1 response by inducing TGF- β 1 from regulatory T cells in bovine mycoplasmosis, *Frontiers In Veterinary Science*, 7 609443, 2020.
- [64] Studer E., Schonecker L., Meylan M., Stucki D., Dijkman R., Holwerda M., Glaus A., Becker J. Prevalence of BRD-related viral pathogens in the upper respiratory tract of swiss veal calves, *Animals*, 11 1940, 2021.
- [65] Paller T., Hostnik P., Pogacnik M., Toplak I. The prevalence of ten pathogens detected by a real-time PCR method in nasal swab samples collected from live cattle with respiratory disease. *Slovenian Veterinary Research*, 54 101-107, 2017.
- [66] Vallejo J. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus subspecies among persistently infected positive samples submitted to a diagnostic laboratory from cattle in the United States, *The Degree of Doctor of Pathobiology*, Kansas State University, 2020.
- [67] Aslan M.E., Azkur A.K., Gazyagci S. Epidemiology and genetic characterization of BVDV, BHV-1, BHV-4, BHV-5 and *Brucella* spp. infections in cattle in Turkey, *Journal of Veterinary Medical Science*, 77 1371-1377, 2015.
- [68] Gur S. Prevalence of bovine viral diarrhoea, bovine herpesvirus type 1 and 4 infections in repeat breeding cows in western Turkey, *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 48 228-233, 2011.
- [69] McMullen C., Alexander T.W., Leguillette R., Workentine M., Timsit E. Topography of the respiratory tract bacterial microbiota in cattle, *Microbiome*, 8 91, 2020.
- [70] Bell R.L., Turkington H.L., Cosby S.L. The bacterial and viral agents of BRDC: Immune evasion and vaccine developments, *Vaccines*, 9 337, 2021.
- [71] Joshi V., Gupta V.K., Kumar O.R.V., Pruthivishree B.S., Dimri U., Alam S. Bovine respiratory disease- an updated review, *Journal of Immunology and Immunopathology*, 18 86-93, 2016.
- [72] Perino L.J., Apley M.D. Clinical trial design in feedlots, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 14 343-365, 1998.



- [73] Richeson J.T., Pinedo P.J., Kegley E.B., Powell J.G., Gadberry M.S., Beck P.A., Falkenberg S.M. Association of hematologic variables and castration status at the time of arrival at a research facility with the risk of bovine respiratory disease in beef calves, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243 10351041, 2013.
- [74] Martin S.W., Lumsden J.H. The relationship of hematology and serum chemistry parameters to treatment for respiratory disease and weight gain in ontario feedlot calves, *Canadian Journal of Veterinary Research*, 51 499505, 1987.
- [75] Autio T., Pohjanvirta T., Holopainen R., Rikula U., Pentikainen J., Huovilainen A., Rusanen H., Soveri T., Sihvonon L., Pelkonen S. Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds, *Veterinary Microbiology*, 119 256-265, 2007.
- [76] Jamali H., Rezagholipour M., Fallah S., Dadrasnia A., Chelliah S., Velappan R.D., Wei K.S., Ismail S. Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Pasteurella multocida* isolated from bovine respiratory infection, *The Veterinary Journal*, 202 381-383, 2014.
- [77] Ollivett T.L., Buczinski S. On-farm use of ultrasonography for bovine respiratory disease, *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 32 19-35, 2016.
- [78] Braun U. Traumatic pericarditis in cattle: Clinical, radiographic and ultrasonographic findings, *The Veterinary Journal*, 182 176-186, 2009.
- [79] Flock M. Diagnostic ultrasonography in cattle with thoracic disease, *The Veterinary Journal*, 167 272-280, 2004.
- [80] Andrews A.H. Calf Respiratory Diseases. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG editors. *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle*, Edition 2, Oxford, Blackwell Science, s. 239-248, 2008.
- [81] Theurer M.E., Larson R.L., White B.J. Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of commercially available vaccines against bovine herpesvirus, bovine viral diarrhea virus, bovine respiratory syncytial virus, and parainfluenza type 3 virus for mitigation of bovine respiratory disease complex in cattle, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246 126-142, 2015.
- [82] Stilwell G., Matos M., Carolino N., Lima M.S. Effect of a quadrivalent vaccine against respiratory virus on the incidence of respiratory disease in weaned beef calves, *Preventive Veterinary Medicine*, 85 151-157, 2008.
- [83] Wildman B.K., Perrett T., Abutarbush S.M., Guichon P.T., Pittman T.J., Booker C.W., Schunicht O.C., Fenton R.K., Jim G.K. A comparison of 2 vaccination programs in feedlot calves at ultra-high risk of developing undifferentiated fever/bovine respiratory disease, *The Canadian Veterinary Journal*, 49 463-472, 2008.
- [84] Chamorro M.F., Palomares R.A. Bovine respiratory disease vaccination against viral pathogens: Modified live versus inactivated antigen vaccines, intranasal versus parenteral, what is the evidence? *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36 461-472, 2020.
- [85] Gorden P.J., Plummer P. Control, management, and prevention of bovine respiratory disease in dairy calves and cows, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26 243-259, 2010.
- [86] Hilton W.M. BRD in 2014: Where have we been, where are we now, and where do we want to go? *Animal Health Research Reviews*, 15 120-122, 2014.

Motion Control and Analysis of Delta-type a Parallel Robot

Tayfun ABUT¹, Servet SOYGÜDER²

¹Department of Mechanical Engineering, Mus Alparslan University, 49100, Mus, Turkey

²Department of Industrial Engineering, Ankara Yıldırım Beyazıt University, 06100, Ankara, Turkey

✉: tayfunabut@gmail.com,  ¹0000-0003-4646-3345,  ²0000-0002-8191-6891

Received (Geliş): 05.10.2021

Revision (Düzeltilme): 20. 11.2021

Accepted (Kabul): 29.11.2021

ABSTRACT

Parallel robots have natural advantages for many applications thanks to their high rigidity, high accuracy, low inertia of the moving parts and lightness, etc. The goal of this study has performed motion control, the kinematic and workspace analyses of a Delta-type parallel robot with 3 degrees of freedom (3-DOF). Delta-type parallel actual parameter values were used in the motion control and analyses. Forward and inverse kinematics analysis, as well as workspace analysis of the robot, were carried out. In addition, the motion control of the robot is actualized in Cartesian space. In order for the delta-type parallel robot to have zero oscillation and to have a robust structure against external disturbances, the Sliding Mode Control (SMC) method was preferred. As a result, the motion control, kinematics, and workspace analyses of the delta-type parallel robot were realized and examined.

Keywords: Delta type Parallel Robot, Kinematic and Workspace Analysis, Motion Control, SMC

Delta Tipi Bir Paralel Robotun Hareket Kontrolü ve Analizi

ÖZ

Paralel robotlar, yüksek rijitlikleri, yüksek doğrulukları, hareketli parçaların düşük ataletleri ve hafiflikleri vb. sayesinde birçok uygulama için doğal avantajlara sahiptir. Bu çalışmanın amacı, 3 serbestlik dereceli (3-DOF) Delta tipi bir paralel robotun hareket kontrolü, kinematik ve çalışma alanı analizlerini gerçekleştirmektir. Hareket kontrolü ve analizlerde delta tipi paralel robotun gerçek parametre değerleri kullanılmıştır. Robotun çalışma alanı analizinin yanı sıra ileri ve ters kinematik analizleri yapılmıştır. Ayrıca robotun hareket kontrolü kartezyen uzayda gerçekleştirilmiştir. Delta tipi paralel robotun sıfır salınım yapması ve dışarıdan gelen bozuculara karşı sağlam bir yapıya sahip olması için Kayan Kipli Kontrol (KKK) yöntemi tercih edilmiştir. Sonuç olarak delta tipi paralel robotun hareket kontrolü, kinematik ve çalışma alanı analizleri gerçekleştirilmiş ve incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Delta tipi Paralel Robot, Hareket Kontrolü, Kinematik ve Çalışma Alanı Analizi, KKK

INTRODUCTION

In industrial works, robots are needed in flexible production systems, consisting of constantly changing dynamic processes. While most of the robots have open kinematic chain structure (also known as serial manipulator or anthropomorphic structures), parallel robots incorporate closed kinematic chain structures. Parallel manipulators are closed-type mechanisms, containing at least two independent kinematic loops and consisting of two platforms. The movable platform is dependent on a set of parts called the fixed platform feet at the base. As generally each leg is controlled by a separate actuator, system's degree of freedom is equal to the number of legs. As the juncture structure is non-serial, errors are not additive. They provide an advantage in terms of high-speed positioning due to having a more rigid construction. Parallel robots are closed-type parallel mechanisms created through attaching serially connected junction pieces to two platforms, one stationary and one movable, having 2 or more legs in a single axis of symmetry. Parallel delta robots are widely preferred in food, health, electricity and pharmaceutical industry due to their high-speed capacity and low footprint. Reasons for preference of

parallel delta robots are their productivity, flexibility, quality, high performance period, ease of compatibility, low maintenance cost, etc. Delta robot with three degrees of freedom was developed by Clavel during 1990s. The robot moves in the three-dimensional space [1]. Clavel himself completed the kinematic and dynamic analysis of the manipulator [2]. Gosselin analyzed the workplace, namely the three-dimensional cartesian field within reaching distance from a point on the upper platform when orientated, of a parallel robot with 6 degrees of freedom [3]. Romdhane is the first researcher to address the problem of determining the workspace [4]. Workspace of these robots, having 3 degrees of freedom (DOF), is limited within an area in the three-dimensional cartesian field. The problem of determining the workspace was handled by authors, suggesting an algorithm allowing for determining certain parameters of parallel manipulators, using a genetic algorithm, in order to ensure a workspace as much approximate to the anticipated as possible [5-6]. Kosinska et al. presented a method for determining the parameters of a Delta-4 manipulator, applied to the workspace in a series of dots [7]. In another study, a new design method is presented that takes into account the desired working area and oscillation range of the ball joints of the delta robot. The rotation range of a

spherical joint has been taken into account in the design approach and has proven to be effective and simple with an example [8]. Zheng carried out research on intelligent vibration suppression control of high-speed lightweight Delta robot [9]. New suggestions regarding kinematics and workspace of Delta-type parallel robots have been brought forward by Murray and yielded successful results [10-11]. Laribi et al. carried out a study involving the workspace and design analysis of a Delta-type parallel robot [12]. Maya et al. carried out a study on the workspace and bearing capacity of a new configurable delta parallel robot [13]. Riaño et al. proposed and implemented approaches based on a genetic algorithm for the optimal design of a delta parallel robot with vertical linear actuators [14]. In the study carried out by Lopez et al., forward and inverse kinematic analysis as well as the Jacobean matrix of a Delta-type parallel robot have been attained [15]. In order to improve the working performance of Delta robot, many researchers have conducted vibration suppression research [16-17]. The 4-DOF delta parallel robot has been designed to be used as a pick-and-place robot and has been examined by the mechanical interaction of this robot within its practical workspace. The authors proposed a new geometric algorithm to reduce mechanical collisions [18].

Préault et al. were presented new kinematics for the four degrees of freedom (DoF) robot based on the delta architecture. This new device is intended to be used as a tactile device for teleoperation applications. The robot improved based on the global parallel robot architecture was compared with the current robot in terms of kinematic behavior [19]. In another study in the literature, the delta type parallel robot was controlled with these methods in order to benefit from the adaptive and robust control advantages of adaptive control. Two adaptive methods were tried and compared on the delta type parallel robot [20].

Mitsantisuk et al. carried out a haptic system three-dimensional work space analysis, involving a Delta robot-based master and slave robot, and furthermore, achieved sensor-free force control [21]. Shen et al. are carried out a study on the kinematic sensitivity, parameter definition, and calibration of the non-symmetric parallel Delta robot [22]. Development, design and control studies of parallel robots have been researched by several researches up to date [23-26]. Boudjedir et al. were applied iterative learning control-Delta robot with non-repetitive trajectories for quadratic MIMO nonlinear systems [27].

Wu et al. worked on the disturbance observer-based trajectory tracking control of a delta-type parallel robot [28]. Ohno and Takeda researched the design of target trajectories for the detection of joint gaps in a parallel robot based on motor torque measurement [29]. The goal of this study has performed motion control, the kinematical and workspace analyses of a Delta type parallel robot with 3 degrees of freedom (3-DOF). Delta-type parallel actual parameter values were used in the motion control and analyses. Forward and inverse

kinematics analysis, as well as workspace analysis of the robot, were carried out. In addition, the motion control of the robot is actualized in Cartesian space. In order for the delta-type parallel robot to have zero oscillation and to have a robust structure against external disturbances, the Sliding Mode Control (SMC) method was preferred. As a result, the motion control, kinematics, and workspace analyses of the delta-type parallel robot were realized and examined.

MATERIAL and METHOD

System Overview and Analyses

Parallel robots are closed-type parallel mechanisms created through attaching serially connected junction pieces to two platforms, one stationary and one movable, having 2 or more legs in a single axis of symmetry. In this section, kinematic and workspace analyses of the system were done. Physical parameter values of the Delta type Parallel robot are provided on Table 1.

Table 1. The Physical Parameters of a Delta type Parallel robot

Parameters	Values	Symbols
La	450	mm
Lb	250	mm
R	225	mm
r	100	mm

Kinematic Analyses

Forward and Inverse Kinematic

Kinematic analysis is carried out in order that the position of the movable platform or the angles ensuring a certain position of the movable platform are determined based on the angles of the driven elements. Since driven elements in a delta robot are connected to the platform with swivel joints, the parameter determining the positions of such elements is the angle with the stationary element. The analysis in which position of the movable platform is calculated based on the angles of the driven elements is called "Forward Kinematic"; while the other is called "Inverse Kinematic". The Delta-type parallel robot is shown in Figure 1. In general, parallel robot is a closed-loop manipulator, which is rather inconvenient for kinematic calculation. The movable platform remains connected to the base platform, and the direction around the vertical axis on the base plate is zero at all times. As shown on Figure 2, it is stationary, movable platforms are circular with radius of R, and r. Junction points of stationary platform to stationary poles are S1, S2 and S3. X, y, and z coordinates of these points are provided in Equation 1. Motors used in the movable and stationary platform have been placed with the angle of 120°. Geometrical parameters of the Delta-type parallel robot are shown on Figure 3.

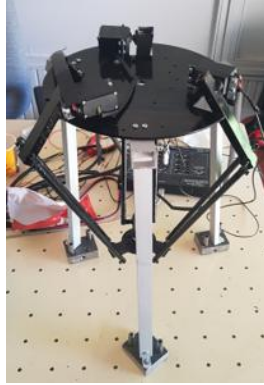


Figure 1. The Delta-type parallel robot

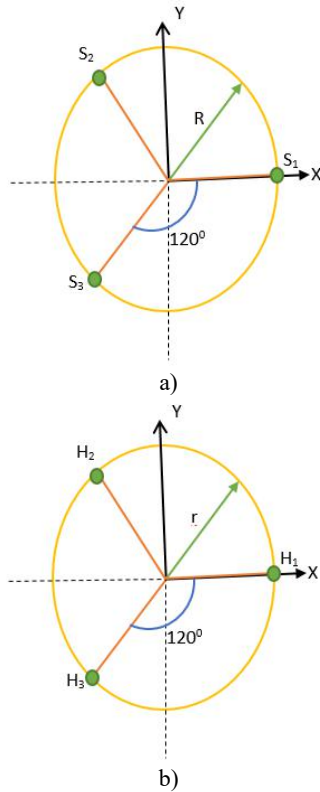


Figure 2. Stationary and movable platform of the Delta-type parallel robot

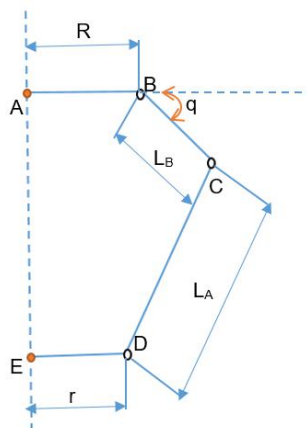


Figure 3. Geometrical parameters of the Delta-type parallel robot

$$\begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} R & -\frac{R}{2} & -\frac{R}{2} \\ 0 & \frac{R\sqrt{3}}{2} & -\frac{R\sqrt{3}}{2} \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (1)$$

Junction points of the movable platform to parallelograms are H1, H2 and H3 points. X, y, and z coordinates of these points are provided in Equation 2.

$$\begin{bmatrix} H_1 \\ H_2 \\ H_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} r & -\frac{r}{2} & -\frac{r}{2} \\ 0 & \frac{r\sqrt{3}}{2} & -\frac{r\sqrt{3}}{2} \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (2)$$

Forward kinematic equations, calculating the XYZ cartesian space of the robot's junction lead position in junction variable values through the use of such angles, were calculated as follows.

$$x_i = (R + L_A \cos \theta_i) \cos \alpha_i \quad (3)$$

$$y_i = (R + L_A \cos \theta_i) \sin \alpha_i \quad (4)$$

$$z_i = L_A \sin \theta_i \quad (5)$$

$$(x - x_i)^2 + (y - y_i)^2 + (z - z_i)^2 = L_B^2 \quad (6)$$

Geometrical parameters of the delta robot are L_A, L_B, r, R and θ_i as defined on Figure 3, and the variables are the junction angles defining the $i = 1, 2, 3, \dots$ configuration. According to the aforementioned equations, there are three unknowns (x, y, z) . Therefore, three equations have been attained by replacing such unknowns with 'i' values.

$$(x - x_1)^2 + (y - y_1)^2 + (z - z_1)^2 = L_B^2 \quad (7)$$

$$(x - x_2)^2 + (y - y_2)^2 + (z - z_2)^2 = L_B^2 \quad (8)$$

$$(x - x_3)^2 + (y - y_3)^2 + (z - z_3)^2 = L_B^2 \quad (9)$$

When the equations above are solved in turn and certain limitations were applied for ease of operation, the following equations were attained.

$$x_0 = \frac{a_1 z_0 + b_1}{d} \quad (10)$$

$$y_0 = \frac{a_2 z_0 + b_2}{d} \quad (11)$$

$$z_0 = \frac{-b \pm \sqrt{\Delta}}{2a} \quad (12)$$

In general, there are two possible solutions; which are the two possible configurations for the given junction angles from the movable platform to the base. Equation 13 was obtained upon use of an epitomic resultant vector value.

$$\overrightarrow{S_1 O} + \overrightarrow{O P} + \overrightarrow{P H_1} = \overrightarrow{S_1 H_1} = L \quad (13)$$

Inverse kinematic problem is caused by determining the q_i ($i=1,2,3$) angle values in cases of characteristic point or the end effector (TCP-Tool Center Point) positions based on general coordinates: x_p, y_p, z_p

$$a_i + b_i \cos \theta_i + c_i \sin \theta_i = 0 \quad (14)$$

$$a_i = ((R - r) \cos a_i - x)^2 + ((R - r) \sin a_i - y)^2 + z^2 - L_2^2 + L_1^2 \quad (15)$$

$$b_i = 2((R - r) \cos a_i - x)L_1 \cos a_i + 2((R - r) \sin a_i - y)L_1 \sin a_i \quad (16)$$

$$c_i = 2zL_1 \quad (17)$$

$$\theta_i = 2 \arctan \frac{-c_i \pm \sqrt{c_i^2 (a_i^2 - b_i^2)}}{(a_i - b_i)} \quad (18)$$

The equations provided above are the general equations intended for inverse kinematic analysis of the system.

Workspace Analyses

One of the most significant subjects in designing processes of parallel robots is determining the workspace. This can be even more critical for parallel robots, as they will, at times, have a highly limited workspace. In recent years, various numerical methods have been developed for determining the workspace of parallel robots. The following figures show the three-dimensional workspace. The views of a) Three-dimensional workspace, b) XY, c) XZ, d) YZ dimensions are shown in Figure 4.

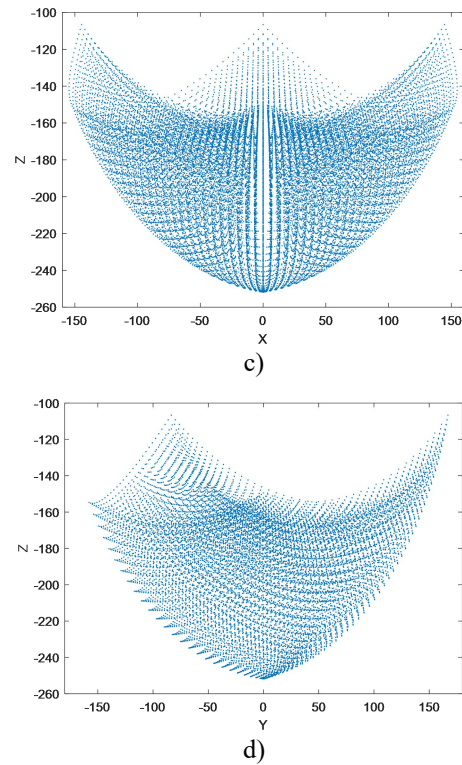
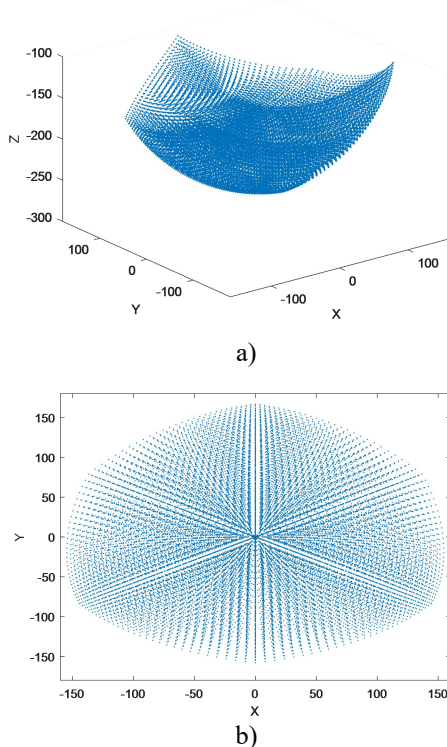


Figure 4. Workspace of Delta type Parallel Robot

Motion Controller Design

The Sliding Mode Control (SMC) control method was used in motion control. This method was utilized in different works in the literature [30-36]. The goal of the control method is that the output value of the robot follows the reference value. The controller was tried to minimize the error. The block diagram of the SMC method is illustrated in Figure 5.

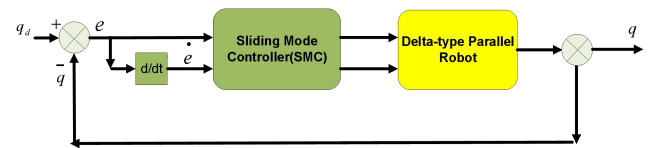


Figure 5. Control structure of the SMC method.

Error and time derivative of the error are given in Eq. (19) and Eq. (20), respectively.

$$e(t) = q_d(t) - q(t) \quad (19)$$

$$\dot{e}(t) = \dot{q}_d(t) - \dot{q}(t) \quad (20)$$

In the above equation, q_d denotes the desired joint trajectory and q shows the real trajectory. The first and second-degree derivatives were used for the Eq. (19).

$$S = \dot{e} - \lambda e \quad (21)$$

$$\dot{S} = \ddot{e} - \lambda \dot{e} \quad (22)$$

where, S represents the sliding surface and λ is a positive defined symmetric matrix, u control signal is given in Eq. 23. Saturation function is used to solve the chattering problem and ϕ shows the thickness of the boundary layer.

$$u = -k \times \text{sign}(s)$$

$$\text{sat}(s/\phi) = \begin{cases} \frac{s}{\phi} & \text{if } \left| \frac{s}{\phi} \right| \leq 1 \\ \text{sign}(s/\phi) & \text{if } \left| \frac{s}{\phi} \right| > 1 \end{cases} \quad (23)$$

where, k is the constant parameter and sign is a signal function and s functions as a switch.

$$u = k * \text{sat}(s) \quad (24)$$

The selected function expression is given in equation 25 in order to perform stability analysis according to the Lyapunov function. The derivative of this expression must be less than zero. Therefore, s should be negative (equation 26).

$$V = \frac{1}{2} s^2 \quad (25)$$

$$\dot{V} = \dot{s} < 0 \quad (26)$$

RESULT and DISCUSSION

In this section, motion control simulation studies were carried out in Cartesian space and the results of the method are given graphically. Location-based control is achieved by converting a robot control problem into various motion control problems and each motor in the robot with position tracking control. Motion control with zero oscillations at the start and end positions of the road is often targeted to maintain zero swing values when picking and placing operations are performed. The sliding mode control method has been preferred for the delta type parallel robot to have zero oscillation and to have a robust structure against the externally impacting disruptors.

The robot was controlled by inverse kinematic equations. Control variables are the position values of X, Y, and Z. Simulation run time was taken as 8 seconds. Figure 6 shows the position-time responses of X, Y, and Z in the simulation environment in accordance with the desired reference input. Figure 7 illustrates the position-time error responses of X, Y, and Z. The results seem to be consistent as seen in Figure 6. Considering Figure 7, it is seen that the control method's positioning errors of the delta type parallel robot are effectively reduced to near zero as expected.

CONCLUSION

A study on kinematic and workspace analyses of a Delta type parallel robot with three degrees of freedom was made and motion control of the robot was performed. The robot's forward and inverse kinematic analyses and the robot's workspace analysis were performed. In addition, the robot's motion control was done using the Sliding Mode Control (SMC) method in Cartesian space. The crackling problem is solved by using the saturation function in the SMC control method. Therefore, the method has become simple and applicable. Given the motion control simulation results, it shows that the method provides good positioning accuracy. As a result, motion control, kinematic and work area analyzes of the delta type parallel robot has been made and examined.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported within the scope of the TÜBİTAK 2211/C Domestic Priority Areas Doctoral Scholarship Program.

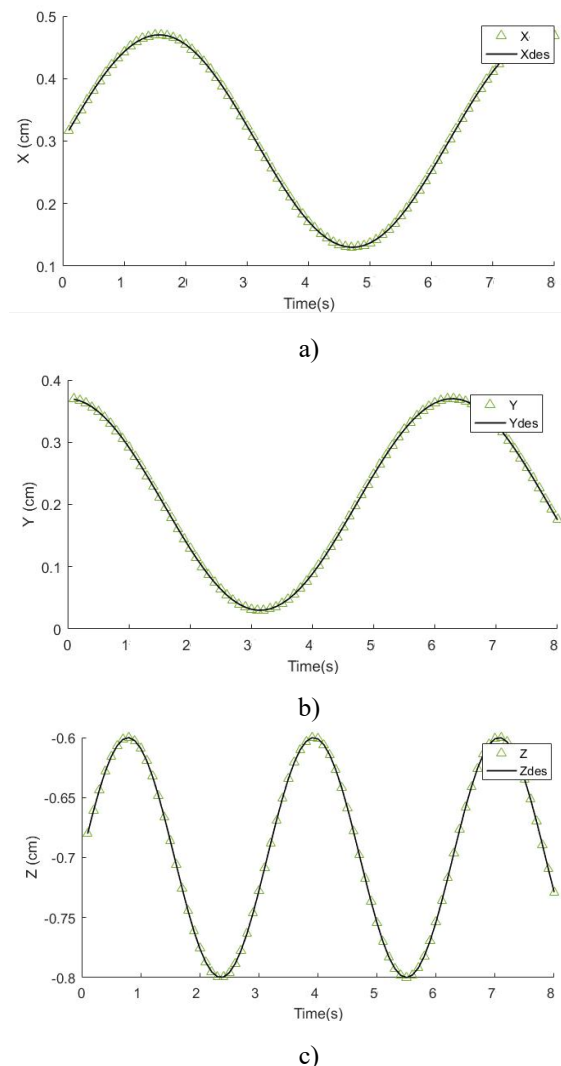


Figure 6. Positions of (a) X, (b) Y, (c) and Z obtained by the reference values

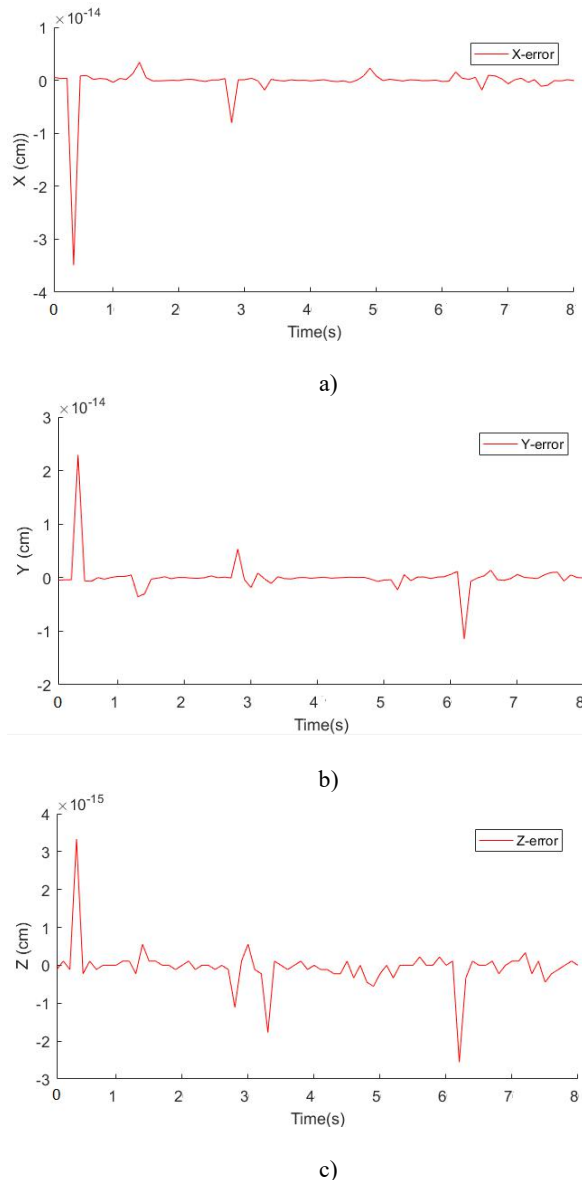


Figure 7. Position error values (a) X, (b) Y, (c) Z

REFERENCES

- [1] Clavel R. A fast robot with parallel geometry. In: Proc. Int. Symposium on Industrial Robots. 91-100. 1988.
- [2] Clavel R. Conception d'un robot parallel rapide à quatre degrés de liberté (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis 925, Swiss Federal Institute of Technology (EPFL), Lausanne, Switzerland). 1991.
- [3] Gosselin C. Determination of the workspace of 6-DOF parallel manipulators, ASME J. Mech. Des. 112 331-336, 1990.
- [4] Romdhane L. Orientation workspace of fully parallel mechanisms, Eur. J. Mech. 13 541-553, 1994.
- [5] Boudreau R., Gosselin C.M. The synthesis of planar parallel manipulators with a genetic algorithm, ASME J. Mech. Des. 121 533-537, 1999.
- [6] Boudreau R., Gosselin C.M. La synthèse d'une plate forme de Gough-Stewart pour un espace de travail atteignable prescrit, Mech. Mach. Theory 36 327-342, 2001.
- [7] Kosinska A., Galicki M., Kedzior K. Design and optimization of parameters of Delta-4 parallel manipulator for a given workspace, J. Robot. Syst. 20:9 539-548, 2003.
- [8] Liu X.J., Wang J., Oh K.K., Kim J. A New Approach to the Design of a DELTA Robot with a Desired Workspace. Journal of Intelligent and Robotic Systems, 39:2 209-225, 2004.
- [9] Zheng K. Research on intelligent vibration suppression control of high-speed lightweight Delta robot. Journal of Vibration and Control, 10775463211024888, 2021.
- [10] Zsombor-Murray P.J. Descriptive geometric, kinematic analysis of Clavel's Delta Robot; Centre of Intelligent Machines, McGill University, 2004.
- [11] Zsombor-Murray P.J. An improved approach to the kinematics of Clavel's DELTA robot. Intelligent Machines, McGill University. 2009.
- [12] Laribi M. A., Romdhane L., Zeghloul S. Analysis and dimensional synthesis of the DELTA robot for a prescribed workspace. Mechanism and machine theory, 42:7 859-870, 2007.
- [13] Maya M., Castillo E., Lomelí A., González-Galván E., Cárdenas A. Workspace and payload-capacity of a new reconfigurable delta parallel robot. International Journal of Advanced Robotic Systems, 10:1 56, 2013.
- [14] Riaño C., Peña C.E.S.A.R., Pardo A.L.D.O. Approach in the optimal development of parallel robot for educational applications. In Proceedings of the WSEAS international conference on Recent Advances in Intelligent Control, Modelling and Simulation (ICMS). 145 2014.
- [15] López M., Castillo E., García G., Bashir A. Delta robot: inverse, direct, and intermediate Jacobians. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science, 220:1 103-109, 2006.
- [16] Wu M., Mei J., Zhao Y., Niu, W. Vibration reduction of delta robot based on trajectory planning. Mechanism and Machine Theory, 153 104004, 2020.
- [17] Zheng K., Zhang Q. Comprehensive analysis of the position error and vibration characteristics of Delta robot. Advanced Robotics, 30:20 1322-1340, 2016.
- [18] Anvari Z., Ataei P., Masouleh M. T. Collision-free workspace and kinetostatic performances of a 4-DOF delta parallel robot. Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering, 41:2 99, 2019.
- [19] Préault C., Saafi H., Laribi M.A., Zeghloul S. Optimal design and evaluation of a dexterous 4 DoFs haptic device based on delta architecture. Robotica, 37:7 1267-1288, 2019.
- [20] Lu C., Miao X., Wang S., Zhang C. Research on Adaptive Robust Control Algorithm for Delta Parallel Robots. In Transactions on Intelligent Welding Manufacturing (pp. 59-68). Springer, Singapore. 2019.
- [21] Mitsantisuk C., Stapornchaisit S., Niramitvasu N., Ohishi K., Force sensorless control with 3d workspace analysis for haptic devices based on Delta robot, Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, IECON, p. 001747-001752, 2015.
- [22] Shen H., Meng Q., Li J., Deng J., Wu G. Kinematic sensitivity, parameter identification and calibration of a non-fully symmetric parallel Delta robot. Mechanism and Machine Theory, 161 104311, 2021
- [23] Lu X., Zhao Y., Liu M. Self-learning interval type-2 fuzzy neural network controllers for trajectory control of a Delta parallel robot. Neurocomputing, 283 107-119, 2018.
- [24] Brinker J., Schmitz M., Takeda Y., Corves B. Dynamic Modeling of Functionally Extended Delta-Like Parallel Robots with Virtual Tree Structures. In ROMANSY 22-Robot Design, Dynamics and Control (p. 171-179). Springer, Cham, 2019.
- [25] Laryushkin P.A., Erastova K.G., Filippov G.S., Kheylo S.V. Calculation of Delta-Type Mechanisms with Linear Actuators and Different Numbers of Degrees of Freedom.



- [26] Journal of Machinery Manufacture and Reliability, 48:3 204-210, 2019.
- [27] Brinker J., Corves B., Takeda Y. On the motion/force transmissibility and constrainability of delta parallel robots. In Computational kinematics. Springer, Cham, p. 340-348, 2018.
- [28] Boudjedir, C.E., Bouri, M. Boukhetala, D. Model-free Iterative learning control with nonrepetitive trajectories for second-order MIMO nonlinear systems-application to a Delta robot. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 68:8 7433-7443, 2020.
- [29] Wu M., Mei J, Ni J, Hu, W. Trajectory tracking control of delta parallel robot based on disturbance observer. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part I: Journal of Systems and Control Engineering, 235:7 1193-1203, 2021.
- [30] Utkin V.I. Sliding mode control design principles and applications to electric drives, IEEE transactions on industrial electronics, 40:1 23-36, 1993.
- [31] Abut T. Position Controller Design and Implementation of Ball and Beam System with SMC and PD Control Methods, Energy Engineering and Control Systems 6(2):120-126,2020.
- [32] Utkin V. I., Chang H.C. Sliding mode control in electro-mechanical systems, Mathematical Problems in Engineering, 8:4-5 451-473, 2002.
- [33] Abut T., Soyguder S. Sliding Mode Control of the Haptic-Teleoperation System Based on a Real and Virtual Robot. In 2019 International Artificial Intelligence and Data Processing Symposium (IDAP), IEEE, 1-7, 2019.
- [34] Hüseyinoğlu M., Abut T. Dynamic model and control of 2-dof robotic arm. European Journal of Technique (EJT), 8:2141-150, 2018.
- [35] Kim N.I., Lee C.W., Chang P.H. Sliding mode control with perturbation estimation: application to motion control of parallel manipulator. Control Eng Pract 6 1321-1330, 1998.
- [36] Abut T., Soyguder S. Haptik-Teleoperasyon Sistemleri için PID ve SMC Kontrol Yöntemlerinin Tasarımı ve Bilgisayar Simülasyonu. Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences, 12 12-21, 2020.
- [37] Chen K.Y., Robust optimal adaptive sliding mode control with the disturbance observer for a manipulator robot system. Int J Control, Autom Syst 16:4 1701-1715, 2018.

Elektroporasyon İşlemi Sırasında Oluşan Hücre Ölümünde Darbe Frekansının Önemi

Mehmet Eşref ALKIŞ¹, Yusuf ALAN²

¹ İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Muş Alparslan Üniversitesi, Muş, Türkiye

² Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Muş Alparslan Üniversitesi, Muş, Türkiye

✉: me.alkis@alparslan.edu.tr,  ¹ 0000-0002-3321-2873,  ² 0000-0003-0007-0212

Geliş (Received): 15.10.2021

Düzeltilme (Revision): 02.11.2021

Kabul (Accepted): 03.11.2021

ÖZ

Tersinir elektroporasyon (EP), darbeleri elektrik alanlarının uygulanmasıyla hücre zarının geçirgenliğinin artırıldığı biyofiziksel bir yöntemdir. Kanser tedavisinde, EP tümör hücrelerinde antikanser ilaçlarının alımını arttırmak, dolayısıyla sitotoksik etkilerini yükseltmek için kullanılır, ancak hücre ölümüne de yol açabilmektedir. Bu çalışmanın amacı tersinir EP uygulamasında meydana gelen hücre ölümünde darbe frekansının etkisini incelemektir. Çalışmada HepG2 karaciğer kanser hücreleri kullanıldı. Hücreler 200 Hz, 1 kHz, 5 kHz, 10 kHz ve 20 kHz frekanslarında 70-1250 V/cm elektrik alanına sahip, 100µs süreli 8 kare dalga elektrik darbesine maruz bırakıldı. Elektrik maruziyetinden sonra hücre canlılığı MTT tahlili ile belirlendi. Çalışmamızın MTT bulgularına göre, EP'de uygulanan darbe frekansı arttıkça HepG2 kanser hücrelerinde inhibisyon azalmaktadır. EP uygulanan HepG2 hücrelerinde en yüksek inhibisyon, 1000 V/cm elektrik alanında ve 200 Hz'lik frekansta meydana geldi. 10 kHz ve 20 kHz frekanslarında uygulanan düşük elektrik alanlar (70 V/cm, 250 V/cm) hücre canlılığında azalmaya neden olmadı. Düşük elektrik alanlarında 1 kHz frekansına göre 5 kHz frekansından daha fazla hücre ölümü gerçekleşse de, yüksek elektrik alanlarında 1 kHz frekansında daha yüksek oranda hücre ölümü tespit edildi. Sonuçlarımız, elektroporasyonda düşük frekanslardaki darbelerin daha fazla hücre inhibisyonuna neden olabileceğini, bu yüzden yüksek frekanslı darbelerin kullanımı daha uygun olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Darbe Frekans, Elektrokemoterapi, Elektroporasyon, HepG2 Hücreleri, Hücre İnhibisyonu

The Importance Of Pulse Frequency in Cell Death During Electroporation Process

ABSTRACT

Reversible electroporation (EP) is a biophysical method in which the permeability of the cell membrane is enhanced by the application of pulsed electric fields. In cancer treatment, EP is used to increase the uptake of anticancer drugs in tumor cells, thus increasing their cytotoxic effects, but it can also lead to cell death. The aim of this study is to examine the effect of pulse frequency on cell death in reversible EP applications. HepG2 liver cancer cells were used in the study. The cells were exposed to 8 square wave electrical pulses of 100 µs duration with an electric field of 70-1250 V/cm at frequencies of 200 Hz, 1kHz, 5kHz, 10kHz and 20kHz. Cell viability after electrical exposure was determined by MTT assay. According to the MTT findings of our study, inhibition in HepG2 cancer cells decreases as the pulse frequency applied in EP increases. The highest inhibition in EP applied HepG2 cells occurred at 1000 V/cm electric field and 200 Hz frequency. Low electric fields (70 V/cm, 250 V/cm) applied at 10 kHz and 20kHz frequencies did not cause a decrease in cell viability. Although more cell death occurred at a frequency of 5 kHz than at a frequency of 1kHz in low electric fields, a higher rate of cell death was detected at a frequency of 1kHz in high electric fields. Our results show that low-frequency pulses in electroporation can cause more cell inhibition, so the use of high-frequency pulses may be more appropriate.

Keywords: Cell Inhibition, Electrochemotherapy, Electroporation, HepG2 Cells, Pulse Frequency

GİRİŞ

Elektroporasyon (EP), kısa süreli ve yüksek şiddete elektrik darbelerinin hücre veya dokulara uygulanarak, hücre zarında nanometre boyutunda geçici porlar oluşturulmasıyla hücre membranlarının geçirgen hale getirilmesi sonucunda DNA, RNA, ilaç, boya ve antikör gibi moleküllerin hücre içine alınmasını kolaylaştıran bir yöntemdir [1, 2]. Bu metot, başlangıçta hücrelere gen aktarım işlemi için kullanılmış, ancak son zamanlarda çeşitli anti-kanser ilaçların hücre içine transferinde de uygulanmaya başlamıştır [3]. Tersinir

elektroporasyonda (TEP), artan geçirgenlik geçicidir, belirli bir süre sonra hücreler plazma zarlarını onarır ve homeostazı yeniden kurar [4]. Elektrokemoterapi (ECT) tekniğinde, özellikle kanser hücre zarında geçemeyen veya geçmekte zorlanan antikanser ajanların hücre içine alımını kolaylaştırmak için ajan verildikten kısa süre sonra TEP uygulanır. ECT, subkutan, kutanöz lezyonların ve tümörlerden kaynaklanan metastazların tedavisinde %75 ile %99 arasında değişen objektif yanıtlar verdiği tespit edilmiştir [5, 6]. Günümüzde ECT, mukozal, büyük ve derin yerleşimli tümörler ile iç organlarda bulunan tümörlerin tedavisine odaklanmıştır.[7]. ECT alternatif bir yaklaşım olarak

veya standart tedaviler (cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi) sonrasında hastaların yaşam kalitesini iyileştirmek için palyatif tedavi olarak kullanılabilir. Bu tedavinin başarısına rağmen, uygulanan elektrik darbe parametrelerine bağlı farklı oranlarda hücre ölümleri meydana gelebildiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir [8, 9]. ECT'de uygulanan elektrik darbeleri genellikle 100 µs süreli, 1 Hz veya 5 kHz tekrarlama frekansına sahip sekiz yüksek voltajlı elektrik darbesinden oluşmaktadır [10]. Yapılan literatür taramasında uygulanan darbe frekansının hücre ölümü üzerindeki etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca uygulanması gereken darbe frekansıyla ilgili net bir bilgi bulunmamaktadır. TEP'de yüksek geçirgenlik ve düşük hücrel mortaliteye dayalı geri dönüşümlü bir etki arzu edilir. Bu çalışmanın amacı, EP işleminde uygulanan farklı frekanslardaki elektrik darbelerinin (70- 1250 V/cm) HepG2 kanser hücre ölümü üzerindeki etkisini araştırmak ve uygun tekrarlama frekansını belirlemektir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Hücre Kültürü

Deneylerimizde HepG2 (pasaj sayısı:8) kanser hücre hattı model olarak kullanıldı. HepG2 hücre hattı Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hücreler, %1 Penicillin-Streptomisin ve % 10 fetal bovine serum (Invitrogen, Carlsbad, CA) eklenmiş Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Sigma) besiyeri kullanılarak 75 ml flasklara ekildi. Hücrelerin gelişimi, 37 C'de %5 CO₂ ve %95 nemli inkübatör (Esco, Singapur) ortamında gerçekleştirildi. Hücre kültürü çalışmaları için biyogüvenlik kabini (ESCO, ABD) kullanıldı. Elektroporasyon uygulamalarında BTX Gemini X2 EP cihazı (Harvard Apparatus, USA) kullanıldı.

Elektroporasyon protokolü

Çalışmada kullanılmak üzere 37°C'de, %5 CO₂ ve %90 nem içeren inkübatöre bırakılan HepG2 hücreleri %85-90 konfluent haline gelince Tripsin-EDTA (sigma) ile kaldırıldı. Falcon tüplere alınan hücre solüsyonu 5 dakika boyunca 1300 rpm'de santrifüj edilerek çöktürüldü. 1×10^6 hücre/ml yoğunluğundaki hücre süspansiyonu her kuvete 400 µl olacak şekilde 0.4 cm'lik elektroporasyon kuvetlerine (BTX) aktarıldı. Hücre süspansiyonlarına, klinik TEP parametrelerine karşılık gelen 100 µs süreli, 70, 250, 1000 ve 1250 V/cm elektrik alana sahip kare dalgalı sekiz darbe treni uygulandı [11, 12]. Her bir voltaj 5 farklı frekansla (200 Hz, 1 kHz, 5 kHz, 10 kHz ve 20 kHz) denendi. Kontrol hücreleri de aynı şartlarda ve sürede kuvetlere yerleştirildi, ancak gerilim uygulanmadı. Her bir deney dörder tekrar şeklinde yapıldı. Elektroporasyon uygulamasından 15-20 dk sonra hücreler 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına ekilerek inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra MTT testi ile

hücre canlılığı analizi yapılarak, farklı elektrik alan ve frekanslardaki EP'nin etkinliği değerlendirildi.

MTT analizi

Farklı frekanslardaki EP parametrelerine bağlı hücre canlılığının belirlenmesi için MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid) testi uygulanmıştır. Deneyde kullanılmak üzere PBS içinde ml'de 5 mg MTT tozu olacak şekilde MTT çözeltisi hazırlandı, dış yüzeyi alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra +4 C'de bekletildi. EP uygulamaları ardından inkübasyon için inkübatöre bırakılan plakalar alınarak, kuyucukların içerisindeki besiyeri boşaltıldı ve her bir kuyucuğa 90 µL DMEM ve 10 µL MTT çözeltisi ilave edilerek 4 saat süreyle 37 C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde tekrar inkübasyona bırakıldı. 4 saatlik inkübasyon süresinin sonunda MTT içeren besiyeri ortamdan atıldı ve kuyucuklarda oluşan formazan kristallerini çözmek için her kuyucuğa 100 µl DMSO (Dimetilsülfoksit) eklendi. Kuyucuklarda oluşan renk şiddeti mikropilaka okuyucu ile optik yoğunlukları (OD) 540 nm'de ölçüldü [13]. Kontrol grubu için de taze besiyeri kullanıldı. Kontrol kuyucukları okutulurken elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı ve bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. EP uygulanmış kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri kontrol absorbans değerine oranlandı ve % canlılık olarak aşağıdaki formül ile hesaplanarak bulundu.

$$\% \text{ Canlılık} = (\text{İncelenen grup OD} / \text{Kontrol grubu OD}) \times 100$$

Her bir analiz üç paralel olarak çalışıldı ve her bir paralel deney ise 6 tekrar içermektedir.

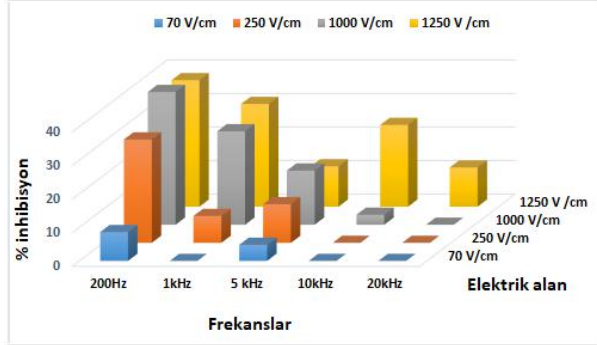
BULGULAR ve TARTIŞMA

Farklı elektrik alan yoğunluklarına (70-1250 V/cm) ve 200 Hz ila 20 kHz arasında değişen farklı darbe tekrarlama frekanslarına karşı HepG2 kanser hücrelerinde meydana gelen ortalama hücre inhibisyon yüzdeleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Bütün tekrarlama frekanslarında 100 µs süreli sekiz darbe treni kullanılmıştır. Darbelerin tekrarlama frekansı, bir trende iki ardışık darbe arasındaki gecikme değiştirilerek ayarlandı. Şekil 1'de görüldüğü gibi uygulanan tüm elektrik alan yoğunluklarında düşük frekanslarda daha fazla hücre inhibisyonu meydana gelmiştir. EP uygulamasında en fazla HepG2 hücre inhibisyonu 1000 V/cm ve 200 Hz frekansında gerçekleşmiştir.

10 kHz ve 20 kHz frekanslarda 70 V/cm veya 250 V/cm elektrik alan uygulanan hücrelerin canlılığında azalma görülmemiştir. Düşük elektrik alanlarında (70 V/cm, 250 V/cm) 1 kHz frekansına göre 5 kHz frekansından daha fazla hücre ölümü gerçekleşse de yüksek elektrik alanlarında (1000 V/cm, 1250 V/cm) 1 kHz frekansında daha büyük oranda hücre ölümü gerçekleşmiştir.

Elektrokemoterapi, hastalarda kutanöz ve subkutanöz tümörlerin etkili bir lokal tedavisi olarak kullanılır [14, 15]. Fakat tedavinin başarısına rağmen darbe iletimi sırasında kas kasılmaları gibi yan etkiler bildirilmiştir [16-18]. ECT terapisinin etkinliği iki faktöre bağlıdır:

birincisi, elektrik darbelerinin genliği ve süresi, darbe sayısı ve frekansı gibi elektriksel özelliklerdir ve ikincisi ise, üzerinde EP yapmak istenen şekil, boyut, hücre iskeleti yapısı ve zar bileşimi gibi hücre ve doku özellikleridir [19, 20].



Şekil 1. Farklı elektrik alan ve frekanslara sahip 8x100 µs darbe treni uygulamasından 24 saat sonra HepG2 hücrelerinde meydana gelen % inhibisyon değerleri. Üç bağımsız deneyden alınan veriler ortalama şeklinde sunulmuştur.

Yapılan bazı çalışmalarda tedavi sırasında meydana gelen kas kasılmaları gibi yan etkilerinin ana nedenlerinden bir tanesi de darbe frekansı olduğunu ve darbe frekansının artırılmasıyla kasılmaların azaltılabileceği öne sürülmüştür [21, 22]. Tetanik kasılma frekansından daha yüksek elektrik darbe tekrarlama frekansı, indüklenen kas kasılmalarının sayısını azaltır [16, 20]. In vitro ve in vivo deneyler, en yüksek frekanslarda bile kimyasal alımın elde edilebileceğini göstermiştir [18, 23]. Ancak, bu protokolün hücre ölümü üzerindeki etkisi net değildir. Bu nedenle, çalışmamızda, elektrik darbelerinin süresi (100 µs) ve sayısı (sekiz darbe) sabit tutularak farklı elektrik alana sahip darbelerin (70 V/cm; 250V/cm; 1000V/cm ve 1250 V/cm) farklı frekanslardaki (200 Hz; 1 kHz; 5 kHz; 10 kHz ve 20 kHz) uygulamalarının HepG2 kanser hücre canlılığı üzerindeki etkisini incelendi. Verilerimiz, artan darbe frekansı ile hücre inhibisyonunun azaldığını gösterdi. EP uygulanan HepG2 hücrelerinde en yüksek inhibisyon 1000 V/cm ve 200 Hz frekansında gerçekleşti. 10 kHz ve 20 kHz frekanslarında uygulanan düşük elektrik alanlar (70 V/cm, 250 V/cm) hücre canlılığında azalmaya neden olmadı. Düşük elektrik alanlarında 1 kHz frekansına göre 5 kHz frekansından daha fazla hücre ölümü gerçekleşmiş olsa da yüksek elektrik alanlarında 1 kHz frekansında daha büyük oranda hücre ölümü tespit edildi. Daha önceki çalışmalarla [18, 24, 25] paralellik gösteren verilerimiz, elektroporasyon uygulamalarında düşük frekanslı darbelerin daha fazla hücre ölümüne neden olduğunu, yüksek değerlerdeki frekansların kullanımı daha uygun olabileceğini göstermektedir. In vitro uygulamaların büyük çoğunluğu için elektroporasyonun verimliliği, tüm tedavi edilen hücre popülasyonuna göre tersine çevrilebilir şekilde korunan hücrelerin fraksiyonu ile belirlenir. ECT'de uygulanacak darbe parametreleri hücre içine antikanser ajan geçişini kolaylaştırırken, minimum düzeyde hücre

ölümüne neden olmalıdır. Daha önce yapılan in vitro ECT çalışmalarında tek başına uygulanan elektroporasyonun, değişik oranlarda hücre ölümüne neden olabildiği bildirilmiştir [8, 26, 27, 28, 29]. Uygulanan elektrik darbelerinin tipi, sayısı, süresi, frekansı ve genliği gibi parametreler hücre geçirgenliğini, ölümünü ve altyapısını değiştirebilmektedir [30]. EP'de uygulanan darbe frekansının tümör hacmi ve hücre canlılığı üzerinde etkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Shankay ve ark. [31] 70 V/cm genlikte 1 Hz ve 5 kHz frekanslı elektrik darbeleri kullanarak yaptıkları ECT çalışmasında, 1 Hz ve 5 kHz tekrarlama frekansı ile tedavi edilen farelerin tümör hacimleri arasında önemli farklılıklar bulunduğunu ve 70 V/cm'de 5 kHz frekanslı darbelerin daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Vernhes ve ark. [32] ise frekansın hücre canlılığı ve geçirgenliği üzerindeki etkisini araştırmak için, 0.5 ile 100 Hz aralığındaki elektrik darbelerinin süresinin ve sayısının sabit tutularak EP uygulamasını yapmışlar. Sonuçları, canlılığın 0,5'ten 10 Hz'e kadar yükseldiğini ve ardından azaldığını, 10 Hz'nin üzerindeki frekanslarla geçirgenleştirilmiş hücrelerin yüzdesinin arttığını göstermektedir. Verilerimize göre HepG2 hücre hattı için optimum EP parametreleri tasarlarken, yüksek frekanslı ve düşük elektrik alana sahip darbelerin seçilmesi uygun olacaktır.

SONUÇ

Sonuç olarak, süresi (100 µs) ve sayısı (8 darbe) sabit tutularak farklı elektrik alana (70 V/cm-1250 V/cm aralığında) sahip darbelerin farklı frekanslardaki (200 Hz; 1 kHz; 5 kHz; 10 kHz ve 20 kHz) uygulamalarının HepG2 kanser hücre canlılığı üzerindeki etkisi araştırıldı. Verilerimiz, elektroporasyonda uygulanan tüm elektrik alan yoğunluklarında düşük frekanslardaki darbelerin daha fazla hücre inhibisyonuna neden olabildiğini ve yüksek değerlerdeki frekansların kullanımının daha uygun olabileceğini göstermektedir. Çalışmanın ilerleyen süreçlerinde darbe frekans ile birlikte hücrenin geçirgenliğini, ölümünü ve altyapısını değiştirebilen darbelerin tipi, sayısı, süresi ve genliği gibi elektroporasyon parametreleri de incelenerek optimizasyonun yapılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Kotnik T., Rems L., Tarek M., Miklavčič D. Membrane electroporation and electropermeabilization: Mechanisms and models, Annual Review of Biophysics, 48:1 63-91, 2019.
- [2] Gehl J. Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research, Acta Physiologica Scandinavica, 177:4 437-447, 2003.
- [3] Cemazar M., Sersa G. Recent Advances in Electrochemotherapy, Bioelectricity, 1:4 204-213, 2019.
- [4] Luz J.C.D.S. da, Antunes F., Clavijo-Salomon M.A., Signori E., Tessarollo N.G., Strauss B.E. Clinical applications and immunological aspects of electroporation-based therapies, Vaccines, 9:7 727, 2021.

- [5] Domanico R., Trapasso S., Santoro M., Pingitore D., Allegra E. Electrochemotherapy in combination with chemoradiotherapy in the treatment of oral carcinomas in advanced stages of disease: efficacy, safety, and clinical outcomes in a small number of selected cases, *Drug Design, Development and Therapy*, 9 1185-1191, 2015.
- [6] Kunte C., Letulé V., Gehl J., Dahlstroem K., Curatolo P., Rotunno R. Electrochemotherapy in the treatment of metastatic malignant melanoma: a prospective cohort study by InspECT, *The British Journal of Dermatology*, 176:6 1475-1485, 2017.
- [7] Esmacili N., Friebe M. Electrochemotherapy: A review of current status, alternative IGP approaches, and future perspectives, *Journal of Healthcare Engineering*, 2019 2784516, 2019.
- [8] Batista Napotnik T., Polajžer T., Miklavčič D. Cell death due to electroporation-A review, *Bioelectrochemistry*, 141 107871, 2021.
- [9] Alkış M.E., Keleştemür Ü., Alan Y., Turan N., Buldurun K. Cobalt and ruthenium complexes with pyrimidine based schiff base: Synthesis, characterization, anticancer activities and electrochemotherapy efficiency, *Journal of Molecular Structure*, 1226 129402, 2021.
- [10] Yadegari-Dehkordi S., Firoozabadi S.M., Forouzandeh Moghadam M., Shankayi Z. Role of endocytosis pathways in electroporation of MCF7 cells using low voltage and high frequency electrochemotherapy, *Cell Journal*, 23:4 445-450, 2021.
- [11] Campana L.G., Miklavčič D., Bertino G., Marconato R., Valpione S., Imarisio I. Electrochemotherapy of superficial tumors - Current status: Basic principles, operating procedures, shared indications, and emerging applications, *Seminars in Oncology*, 46:2 173-191, 2019.
- [12] Sersa G., Cemazar M., Snoj M. Electrochemotherapy of tumours, *Current Oncology*, 16:2 34-35, 2009.
- [13] Fiorentzis M., Kalirai H., Katopodis P., Seitz B., Viestenz A., Coupland S.E. Electrochemotherapy with bleomycin and cisplatin enhances cytotoxicity in primary and metastatic uveal melanoma cell lines in vitro, *Neoplasma*, 65:2 210-215, 2018.
- [14] Zimmermann C.E., Faesser H.A., Gassling V., Wiltfang J. The role of electrochemotherapy with intratumoral bleomycin for early tongue carcinoma, *Acta Oto-Laryngologica*, 141:4 424-431, 2021.
- [15] Alkış M.E. Effects of electroporation on cytotoxicity of 4-aminopyrimidin-2-(1H)-one based ligand and its Cobalt (II) and Ruthenium (II) complexes in MCF-7 cancer cells, *Dicle Medical Journal*, 498-506, 2021.
- [16] Sersa G., Miklavcic D., Cemazar M., Rudolf Z., Pucihar G., Snoj M. Electrochemotherapy in treatment of tumours. *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 34:2 232-240, 2008.
- [17] Miklavcic D., Pucihar G., Pavlovec M., Ribaric S., Mali M., Macek-Lebar A., et al. The effect of high frequency electric pulses on muscle contractions and antitumor efficiency in vivo for a potential use in clinical electrochemotherapy, *Bioelectrochemistry*, 65:2 121-128, 2005.
- [18] Pucihar G., Mir L. M., Miklavcic D. The effect of pulse repetition frequency on the uptake into electroporated cells in vitro with possible applications in electrochemotherapy, *Bioelectrochemistry*, 57:2 167-172, 2002.
- [19] Cadossi R., Ronchetti M., Cadossi M. Locally enhanced chemotherapy by electroporation: clinical experiences and perspective of use of electrochemotherapy, *Future Oncology*, 10:5 877-890, 2014.
- [20] Corovic S., Bester J., Miklavcic D. An e-learning application on electrochemotherapy, *Biomedical Engineering Online*, 8:1 26, 2009.
- [21] Zupanic A., Ribaric S., Miklavcic D. Increasing the repetition frequency of electric pulse delivery reduces unpleasant sensations that occur in electrochemotherapy, *Neoplasma*, 54:3 246-250, 2007.
- [22] Polajžer T., Dermol-Černe J., Reberšek M., O'Connor R., Miklavčič D. Cancellation effect is present in high-frequency reversible and irreversible electroporation, *Bioelectrochemistry*, 132:107442 107442, 2020.
- [23] Shankayi Z., Firoozabadi S.M. Antitumor efficiency of electrochemotherapy by high and low frequencies and repetitive therapy in the treatment of invasive ductal carcinoma in BALB/c mice, *Cell Journal*, 14:2 110-115, 2012.
- [24] Shankayi Z., Firoozabadi S.M.P., Hassan Z.S. Optimization of electric pulse amplitude and frequency in vitro for low voltage and high frequency electrochemotherapy, *The Journal of Membrane Biology*, 247:2 147-154, 2014.
- [25] Fusco R., Di Bernardo E., D'Alessio V., Salati S., & Cadossi M. Reduction of muscle contraction and pain in electroporation-based treatments: An overview, *World Journal of Clinical Oncology*, 12:5 367-381, 2021.
- [26] Klein N., Mercadal B., Stehling M., Ivorra A. In vitro study on the mechanisms of action of electrolytic electroporation (E2), *Bioelectrochemistry*, 133:107482 107482, 2020.
- [27] Alkış M.E., Buldurun K., Turan N., Alan Y., Yılmaz Ü.K., Mantarcı A. Synthesis, characterization, antiproliferative of pyrimidine based ligand and its Ni(II) and Pd(II) complexes and effectiveness of electroporation, *Journal of Biomolecular Structure Dynamics*, 1-11, 2020.
- [28] Alkış M.E., Turan N., Alan Y., Irtegun Kandemir S., Buldurun K. Effects of electroporation on anticancer activity of 5-FU and newly synthesized zinc(II) complex in chemotherapy-resistance human brain tumor cells, *Medical Oncology*, 38:11 129, 2021.
- [29] Jakstys B., Jakutaviciute M., Uzdavinyte D., Satkauskienė I., Satkauskas S. Correlation between the loss of intracellular molecules and cell viability after cell electroporation, *Bioelectrochemistry*, 135:107550 107550, 2020.
- [30] Sączko J., Kamińska I., Kotulska M., Bar J., Choromańska A., Rembiałkowska N. Combination of therapy with 5-fluorouracil and cisplatin with electroporation in human ovarian carcinoma model in vitro, *Biomedecine Pharmacotherapie*, 68:5 573-580, 2014.
- [31] Shankayi Z., Firoozabadi S., Hassan Z. Comparison of low voltage amplitude electrochemotherapy with 1 Hz and 5 kHz frequency in volume reduction of mouse mammary tumor in Balb/c mice, *Koomesh*, 13:4 486-490, 2012.
- [32] Vernhes M.C., Cabanes P.A., Teissie J. Chinese hamster ovary cells sensitivity to localized electrical stresses, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 48:1 17-25, 1999.

An overview of the cytological, physiological, genetic and morphological effects of *Mentha longifolia* essential oil

Sedat BOZARI¹, Güleray AĞAR², Derya EFE³, Ömer BİNGÖL⁴

¹Mus Alparslan University Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Mus 49250, Turkey

²Ataturk University, Faculty of Science, Department of Biology, Erzurum 25240, Turkey

³Giresun University, Espiye Vocational School, Department of Herbal and Animal Production, Giresun, 2800, Turkey

⁴Yuzuncu Yıl University, Faculty of Science, Department of Biology, Van, 65000, Turkey

✉: sedatbozari@gmail.com,  ¹ 0000-0001-5265-2236,  ² 0000-0002-8445-5082,  ³ 0000-0003-3554-1790,  ⁴ 0000-0001-8007-4621

Received (Geliş): 01.12.2021

Revision (Düzeltilme): 16.12.2021

Accepted (Kabul): 22.12.2021

ABSTRACT

The present study was aimed to impress the cytological, physiological, genetic, and morphological effects of the essential oil obtained by hydro-distillation from *Mentha longifolia* (L.) HUDSON (L.) HUDSON on maize seeds. These naturally occurred compounds can be used instead of synthetic chemicals. To determine the biological activity of the essential, they were applied to *Zea mays* L. seeds at different concentrations. It was observed that the germination rate and mitotic division of the root tips were decreased with the increasing of the concentrations. Genomic stability was established by RAPD and the genetic differences between concentrations with the AFLP technique. The alterations of RAPD and AFLP profiles did not support germination rate and mitotic index results while supporting each other. To determine the effects of the volatile on gene expression, the soluble protein level, and plant growth regulators levels were measured and the changes in the protein profile were determined by SDS-PAGE analyses. The independent changes were observed at plant growth regulators, soluble protein level, and protein profiles. It was determined that the oils showed independent effects at different parameters against to maize seeds. It was concluded that different mechanisms have been considered by maize seeds to protect seeds from exogenous substances.

Keywords: Allelopathy, AFLP, Essential oil, Lamiaceae, Plant growth regulator, RAPD, SDS-Page

Mentha Longifolia Esansiyel Yağlarının Sitolojik Fizyolojik Genetik ve Morfolojik Etkilerine Genel Bir Bakış

ÖZ

Bu çalışma, *Mentha longifolia* (L.) HUDSON (L.) HUDSON'dan hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağların mısır tohumlarına karşı sitolojik, fizyolojik, genetik ve morfolojik etkilerini belirlemeyi amaçlamıştır. Doğal olarak oluşan bu bileşikler, sentetik kimyasallar yerine kullanılabilir. Uçucu yağlar, biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi için, *Zea mays* L. tohumlarına farklı dozlarda uygulandı. Uygulanan yağların dozlarının artmasıyla kök ucu uzunluğunun, çimlenme hızının ve mitotik bölünmenin azaldığı gözlemlendi. Yağların neden olduğu genomik stabilite RAPD, dozlar arasındaki genetik farklılıklar ise AFLP tekniği ile belirlendi. RAPD ve AFLP profillerindeki değişikliklerin benzer olduğu ancak çimlenme oranı ve mitotik indeks sonuçlarıyla uyumadığı görüldü. Uçucu bileşenlerin gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini belirlemek için çimlendirilen tohumların çözünür protein seviyesi ve bitki büyüme düzenleyicileri seviyeleri ölçüldü. Protein profillerindeki değişiklikler SDS-PAGE ile belirlendi. Bitki büyüme düzenleyicileri seviyeleri, çözünür protein seviyesi ve protein profillerinde birbirinden bağımsız değişimler gözlemlendi. Uygulanan uçucu yağların mısır tohumları üzerine farklı parametrelerde birbirinden bağımsız etkiler gösterdiği belirlendi. Çimlenen tohumların, ekzojen maddelerden korunmak için farklı mekanizmalar geliştirdiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Allelopati, AFLP, Bitki büyüme düzenleyicileri, Lamiaceae, RAPD, SDS-Page, Uçucu yağlar

INTRODUCTION

In recent years, one of the most serious problems is starvation, which treats millions of people all over the world. Therefore, various researches have been carried out to use the agricultural lands efficiently and to increase yield production [1, 2]. Every year, a substantial part of the yield has been lost due to plant diseases caused by fungi, bacteria and, viruses or weeds. Up to now, many synthetic chemicals and herbicides

have been used to protect the crops from undesirable effects of microorganisms and harmful weeds. However, recent studies have exhibited that indiscriminate use of synthetic chemicals and herbicides in agricultural lands cause undesirable effects on environmental health because of the accumulation of toxic residues in agricultural products and their slow biodegradation [3, 4]. This situation has forced the researchers to discover new natural substances from various sources like

medicinal plants possessing antimicrobial potential against plant diseases and allelopathic effects against weeds [5, 6]. Among many medicinal plants, Lamiaceae species and their products such as essential oils, have been widely studied for their biological activities. The Lamiaceae is a family of plants having about 233 genera and 6900 species [7]. The phenolic compounds, such as rosmarinic acid, caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid, luteolin, apigenin, genkwanin, quercitrin, rutin, epicatechin, and catechin are rich in Lamiaceae species [4, 8, 9]. It has been clarified that they have many biological activities, such as anti-inflammatory, anticancer, antifungal, antimicrobial, and allelopathic activities due to their components [10-12]. *Mentha longifolia* L. Hudson ssp. *longifolia*, a member of Lamiaceae, is a well-known aromatic and medicinal plant. It has been used in folk medicines to treat many illnesses because of its antispasmodic, expectorant, diuretic, antimicrobial activities as is stated in the relevant literature [13, 14]. In the light of these researches, it seems *Mentha longifolia* L. Hudson ssp. *longifolia*, to be a good candidate for a natural bio-pesticide agent. Nevertheless, probable side effects on the main agricultural products should be completely determined not to cause damage to the living.

In this research, it was aimed to evaluate the biological effects of *Mentha longifolia* L. Hudson ssp. *longifolia*, which has been previously proven to be allelopathic and antimicrobial. To this end, the essential oil was applied to *Zea mays* L. seeds at different concentrations. The germination rates and mitotic divisions of the root tips, the soluble protein levels, and plant growth regulator levels of samples and control groups were determined. In addition, RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA-PCR) and AFLP-PCR (amplified fragment length polymorphism-PCR), and SDS-PAGE analyses were carried out for the determination of genotoxic and physiological effects of essential oil of *Mentha longifolia* L. Hudson ssp. *longifolia* on *Zea mays* L. seeds.

MATERIAL AND METHODS

Plant material

Plant material was collected at the flowering stage from the eastern part of Erzurum in Turkey. Identification of the plant materials was confirmed by a plant taxonomist, Prof. Dr. Yusuf KAYA, in the Department of Biology, Ataturk University, Erzurum, Turkey.

Isolation of the essential oil and GC-MS analysis

Plant samples were dried in a canopy room. The aerial parts (leaves, flowers, and stems) of the plants were powdered with a blender and then subjected to water distillation for 2-3 h in a Clevenger-type apparatus (Thermal Laboratory Equipment, TURKEY). The essential oils were stored at +4°C for further studies.

The essential oils were analyzed by using a Thermofinnigan Trace GC/Trace DSQ/A1300, (E.I. Quadrapole) equipped with an SGE-BPX5 MS capillary column (30 m X 0.25 mm i.d., 0.25 µm). The

components were identified based on the comparison of their relative retention time and mass spectra with those of standards, Wiley 7N library data of the GC-MS system, and literature data. The results were also confirmed by the comparison of the compound's elution order with their relative retention indices on non-polar phases reported in the literature.

Seed germination with essential oil treatment

A total of 15 *Z. mays* seeds, which are possibly equally sized, were superficially sterilized with 5% (w/v) NaOCl for 6-10 min, germinated and exposed to four different concentrations (0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 µL/mL) of essential oils dissolved in Tween 20 [12]. The control group was formed by using only double-distilled water with Tween 20 without Essential oil (EO). Three replicates were performed for each experimental group and control group.

Genomic DNA isolation and application of molecular methods

After 7-10 days, approximately 15 mg of germinated part of the seeds was collected and snap-frozen in liquid nitrogen. DNA isolation of samples was carried out according to the method described by Liu et. al. [15].

16 primers were used for RAPD-PCR reactions. The PCR reactions were accomplished in the tubes containing reaction mixtures (3 µL 10X buffer, 1.2 µL 10 mM dNTPs, 1.2 µL 25 mM MgCl₂, 2.0 µL 5µM primer, 0.4 µL Taq polymerase (5 U), 19.2 µL ddH₂O and 3.0 µL of DNA of the sample (100 ng/µL). Then the samples were performed to RAPD PCR as described before [12]. The electrophoresis of the PCR products was also performed according to the method described by Bozari et. al.[12]. The amplified DNA bands were detected by the BioDoc Image Analysis System with Uvisoft Analysis Package (Cambridge Electronic Design Ltd., Cambridge, UK.) and evaluated by using computer software (TotalLab TL120 v.2009). Genomic template stability was calculated for each primer by using the following formula (GTS, %) $GTS = (1 - a/n) * 100$. The average number of polymorphic bands detected in each sample (a) and the number of total bands in the control (n) were used for calculation. AFLP analysis was performed as per the instructions of the manufacturer (Invitrogen, Life Technologies). The amplification reaction was stopped by the addition of 109 formamide dye, and products were electrophoresed on a 6% denaturing polyacrylamide gel. Silver staining is used to stain the gels to detect trace amounts of bands [12]. The presence of the bands in the produced gel scored as "1" and absence as "0". The results were evaluated by SPSS V17 statically program and the UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) dendrogram was obtained.

SDS-PAGE profile and quantitative analyses of soluble proteins

The total soluble protein of the samples was determined by using the method described by Bradford (1976). 0.5

g of all samples (root and stem of EO-treated and untreated samples) was ground and homogenized in 0.05 M phosphate buffer (pH:6.5). The homogenates were centrifuged at 12000 rpm for 20 min. Bovine Serum Albumin (BSA) was used as standard. Inhibitory rate (IR) (%) was calculated using the equation: $IR = (1 - x/y) * 100$ (y and x were the average values detected in the control and each sample, respectively). SDS-PAGE of the total protein was performed according to the method described by Shultz et. al.[16] with some modifications [12].

Determination of plant growth regulator levels

Extractions and purifications were performed according to Battal and Tileklioğlu [17] with little modifications. The frozen samples (2-2.5 g) were powdered in liquid nitrogen. The cold methanol (80%) was added to powdered samples and homogenized by using a tissue-blender (Jencons). Then, they were stored at 4 °C for 24 h in the dark and filtered through a filter paper (Whatman No.1). The supernatants were again filtered through a PTFE filter (0.45 µm) and concentrated at 35 °C by evaporation. The samples were re-dissolved in 0.1 M KH₂PO₄ buffer (pH 8.00) and centrifuged at 10.000 for 1 h at 4 °C. The supernatants were mixed 1 g polyvinyl polypyrrolidone (PVPP, Sigma Chemical Co, Dorset, UK) and filtered through Whatman No.1 [21]. The filtrates were passed through Sep-Pak C18 (Waters Hichrom Ltd., Berkshire, UK) cartridges. Cartridge adsorbing plant growth regulator were collected eluted with 80% methanol and the extracts were collected in vials. Then, the samples were analyzed to detect gibberellic acid (GA), zeatin (ZA), indole acetic acid, abscisic acid (ABA) levels [18, 19].

Cytological analysis

Root tips (1.5 cm long) were excised from germinating seeds, directly fixed in Farmer's fixative and macerated in 1N HCl for 15 min, at 60 °C. The macerated tips were washed with distilled water and stained with acetorsein (2%) and cytological preparations were carried by using Feulgen's squash technique [20]. Well spread plates from at least 20 meristems per replication were scored for each treatment for various types of cytological effects. Microscopic observations were made with a light microscope (LEICA DM-500 of 10 x 40) and by using 100 magnifications. Mitotic index (MI) was calculated using the following formula:

$$MI = [a / (a + b)] * 100$$

where a is the number of dividing cells and b is the number of non-dividing cells. The data were analyzed according to Duncan's new multiple range test of significance.

RESULTS and DISCUSSION

The most crucial point before discussing the data presented in this study is that allelopathy, which is related to plant-organism interactions, is not a one-way

communication between the two. The natural conditions differ from a laboratory. Microbial fauna, ecological circumstances, and soil characteristics are critical during allelopathic interactions. In addition to external factors, the phenological age, tolerance threshold, and genetic content of the host plants can also affect the allelopathy potential [21]. During the experimental applications, the possible effects of some of these factors were not counted. The analytical results indicated that *M. longifolia* species extract mostly contains monoterpenes and diterpenes such as piperitenon derivatives, pulegon like monoterpenes, and caryophyllene derivative sesquiterpenes. The seed germination rates of maize was reduced in a dose-dependent manner. Although the mitotic index ratio was not important among the control, 0.1, and 0.2 µL/mL concentrations, but 0.4 and 0.8 µL/mL concentrations were separated significantly from the control by reducing to %12.5 ve %12.7 rates, respectively (Table 1).

Table 1. Mitotic division percentages calculated from root tips of *Zea mays* L. with applying of essential oil of *M. longifolia*
* Determined by Duncan multiple comparison test at 5% significance level.

Concentrations	Mitotic Index <i>M. longifolia</i>
Control	19.3 ^{a*}
0.1 µL/mL	19.1 ^a
0.2 µL/mL	18.0 ^a
0.4 µL/mL	12.5 ^b
0.8 µL/mL	12.7 ^b
Average	16.3
**CV %	6.7

**Cv: Coefficient of Variation

There is no significant difference between samples expressed with the same letter in the same column (P<0.05)

Although the low germination and division rates, the highest RAPD based polymorphism was identified in 0,1 µL/mL concentration against the expected results. While the dose-dependent polymorphism decreased, the GTS was normalized by increasing as dose-dependent like 64.13%, 67.39%, 70.65%, and 75% respectively. At this moment, it was observed that the RAPD results did not support the previous parameters (Table 2, Figure 1).

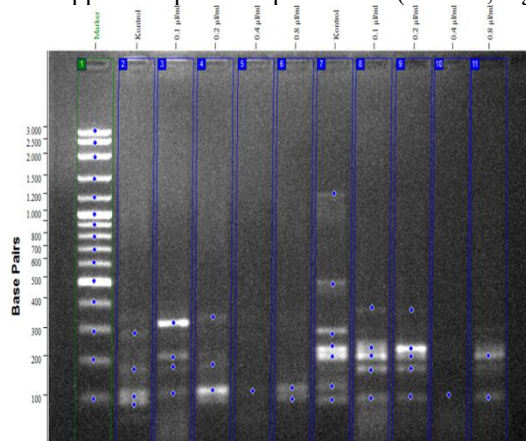
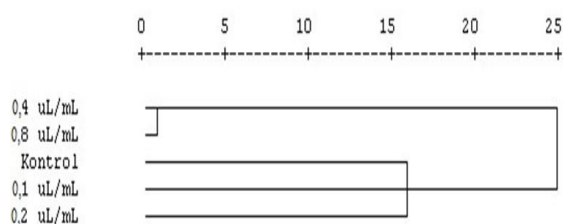


Figure 1. Amplification products of DNA samples from maize seeds to which essential oils from *M. longifolia* were applied against primers OPY-15 and OPY-16

Table 2. The number of bands in control and molecular size of (base pair) disappearance (-) and/or appearance (+) of DNA bands for all primers in the EO-treated maize seedlings

Primer	<i>M. longifolia</i>				
	Control	0,1 μL/mL	0,2 μL/mL	0,4 μL/mL	0,8 μL/mL
OPA-13	5 +	357	357	357	ND
	-	462	462	462	462
OPH-17	7 +	ND	140	ND	140
	-	387	ND	ND	ND
OPA-2	6 +	ND	ND	286	286
	-	384	384	384	384
OPA-1	7 +	ND	ND	ND	ND
	-	404	404;61	404;32	404
OPA-6	2 +	479	ND	ND	ND
	-	338	ND	ND	ND
OPH-14	4 +	421	421	421	421
	-	110	110	110	110
OPH-18	7 +	ND	ND	ND	ND
	-	282;81	282;81	282;81	282;81
OPY-6	6 +	386	386	ND	ND
	-	114	114	114	ND
OPY-1	7 +	ND	490	ND	ND
	-	308	308	ND	ND
OPY-8	7 +	ND	ND	ND	ND
	-	428	428	428	428;308;203
OPY-15	1 +	328;	345	ND	ND
	-	208	294	294;17	294;170
OPY-16	6 +	378;16	378;168		168
	-	8	1257;484	1257;4	1257;484;
OPW-1	5 +	ND	ND	ND	324
	-	184;15	184;159	184;15	184;159
OPB-8	9 +	ND	ND	ND	ND
	-	ND	341;217;	341;21	ND
OPW-7	5 +	494;28	494;289	494;28	ND
	-	9;183	ND	9	ND
OPW-5	8 +	521	ND	521	ND
	-	ND	ND	ND	ND
Total bands	92	33	30	27	23
Polimorphism ratio		45,87	32,61	29,35	25
GTS ratio		64,13	67,39	70,65	75

Based on the dendrogram which was obtained from AFLP analyses (Figure 2), it was monitored that 0.4 and 0.8 μL/mL concentrations exhibited one single group identified with the closest concentration amounts.

**Figure 2.** Affinity ratios between *Zea mays* L. seedlings that applied at different concentrations of *M. longifolia* essential oils

The control and other concentrations, however, have been identified as the other highly related groups. In addition, 0.4 and 0.8 μL/mL concentrations were identified as the closest concentrations with a ratio of 0.445 based on the similarity index (Table 3).

Table 3. Genetic similarity index between seeds of *Zea mays* L. to which essential oils of *M. longifolia* were applied

Cons. μL/mL	Control	0.1	0.2	0.4	0.8
Control	1.000				
0.1	0.359	1.000			
0.2	0.356	0.353	1.000		
0.4	0.293	0.306	0.342	1.000	
0.8	0.272	0.273	0.333	0.445	1.000

The furthest concentration to the control was 0.8 μL/mL with a ratio of 0.272. According to these results, it can be concluded that the AFLP results did not support the RAPD analyses completely, contrast germination rates and mitotic index. On the other hand, the dissolved protein amounts in root cells increased compared to control group. However, this increase was not dose dependent. From stem samples, the dose-dependent decreases were observed as related to other concentrations, except 0.1 μL/mL (Table 4).

Table 4. Total soluble protein in the root and stem of *Zea mays* seedlings after the application of essential oil

ID	Cons. [μg/μL]			
	Root	IR*	Stem	IR*
Control	52.20 ^a	0	54.00 ^b	0
0.1 μL/mL	53.58 ^{ab}	+2.64	54.95 ^a	+1.75
0.2 μL/mL	55.89 ^c	+7.09	53.46 ^c	-1
0.4 μL/mL	53.20 ^{ab}	+1.91	52.59 ^d	-2.61
0.8 μL/mL	54.45 ^{bc}	+4.31	52.34 ^d	-3.04

IR: inhibitory rate (%). Means within each column followed by the same letter are not significantly different at the p < 0.05 level as determined by Duncan's multiple range test.

The SDS-page protein profiles were in accordance these results and provided informative data supporting other parameters. In particular, root and stem profiles demonstrated predominant changes at 0.4 μL/mL concentrations. The changes were observed as formation of new protein polymers, disappearance, and the changes on the concentration of protein profiles.

In addition, the plant growth regulator levels also showed moderate fluctuations like increases and decreases as dose independent. Specifically, while the first two concentrations of GA decreased compared to control, 0.4 μL/mL concentration was higher than control, but it was normalized back to the control level for 0.8 μL/mL concentration. ZA, IAA, and ABA levels were lower as compared to the control for 0.1 μL/mL concentration, but significantly higher for other concentrations (Table 5, Figure3).

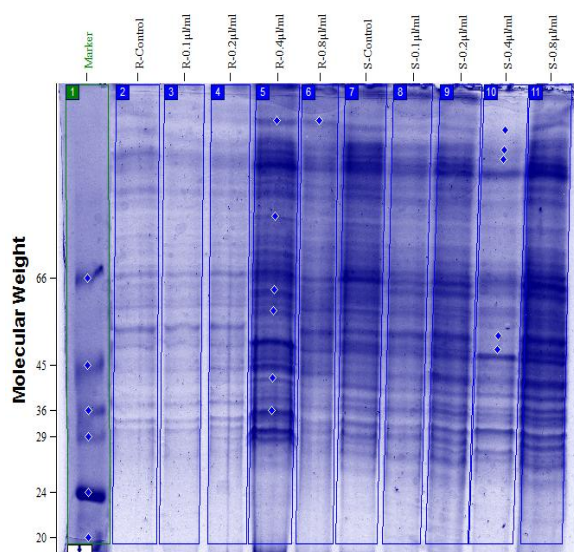


Figure 3. SDS-PAGE protein profiles of maize seeds treated with essential oils from *M. longifolia* (R: Root, S: Stem; only Marker and a part of polymorphic bands are marked)

Table 5. The changes that occurred at GA, ZA, IAA and ABA

	Plant growth promoting			Plant growth inhibiting
	GA ($\mu\text{g/mL}$)	ZA ($\mu\text{g/mL}$)	IAA ($\mu\text{g/mL}$)	ABA ($\mu\text{g/mL}$)
Control	575.20 \pm 1.27 ^d	3.20 \pm 0.05 ^a	36.40 \pm 0.11 ^b	8.89 \pm 0.05 ^c
0.1 $\mu\text{L/mL}$	398.31 \pm 0.23 ^a	2.92 \pm 0.23 ^a	30.94 \pm 0.23 ^a	7.41 \pm 0.20 ^d
0.2 $\mu\text{L/mL}$	405.99 \pm 0.51 ^b	4.11 \pm 0.30 ^b	44.51 \pm 0.35 ^d	9.70 \pm 0.23 ^c
0.4 $\mu\text{L/mL}$	641.50 \pm 0.28 ^c	4.60 \pm 0.11 ^b	53.90 \pm 0.10 ^c	16.27 \pm 0.27 ^b
0.8 $\mu\text{L/mL}$	468.59 \pm 0.57 ^c	6.09 \pm 0.05 ^c	43.37 \pm 0.06 ^c	13.31 \pm 0.05 ^a

level with applying of essential oil of *M. longifolia*

* In the same column, the same character expressed that there is no significant differences between the samples ($P < 0.05$).

The decreases were observed in plant growth regulators levels during the EO treatments. At first, it could be explained by seeds-related stress conditions. On the other hand, it has been hypothesized for the following high concentrations that the germinating seeds employ their inherent homeostatic regulations to avoid these adverse situations by doing so neutralize the plant growth regulator conditions back to regular levels.

In the literature, it could be encountered with enormous amounts of publication related to *M. longifolia* species. The different extracts obtained from this species were used for various experiments and identified as potential mutagenic, co-mutagenic, and antimutagenic effects [22]. According to some previous experiments, different extracts were identified with their activities such as cytotoxic activity, inhibition effect on seed germination of tested plants, substantial herbicide potential by inhibiting the seed germination, blocking the plasma membrane Ca^{2+} channels and eliminating the toxic free radicals [23, 24]. It was observed that α -

terpinene and carvacrol have shown synergistic effects and inhibited seed germination on test plants [25]. It is possible to consider the synergistic and antagonistic interactions together with the total allelopathic effects of volatiles. It could be concluded that the content of volatile lipids of *M. longifolia* demonstrated harmony with the results from previous studies indicated quantitative variations due to the regional and genetic differences. It is hard to mention a specific cellular target for entire volatile lipid contents since they contain many different compounds. When the volatile content was analyzed for each compound as singular, it could be observed that their effects can vary specifically. For instance, it was reported from previous studies that the piperitone derivatives, the most common monoterpene in *M. longifolia*, trigger cellular deformations [26]. It could be also stressed that these compounds could easily pass-through the plasma membrane and change the membrane permeability and affect the protoplasmic content adversely. Terpenoids which differ chemically and functionally most likely overcome various characteristics in metabolic reactions. GA and ABA type terpenes are included in C_5 - C_{20} group-terpenes as similar to monoterpenes, diterpenes, and sesquiterpenes and essential for propagation, growth, and defense systems [27]. Therefore, the contents of volatile lipid comprising such terpenoids could also reveal similar effects on plant growth regulators mentioned above. As Schempp et al. [28] has underscored that allelochemicals are one of the biological stress factors.

In general, plants develop stress conditions when they are treated with or exposed to these chemicals and initiate various mechanisms such as avoidance, adaptation, and defense-related which resulted in physiological alterations in plant metabolic activity. It is well known that allelochemicals inhibit the biosynthesis of metabolically vital enzymes and proteins by adverting the expression of specific genes in target plants. It is also accepted that caryophyllene and its derivatives can reveal mutagenic and antimutagenic effects at different extents through binding specific receptors. In parallel, the alterations occurring in nucleotide base profiles of genomic DNA can stem from deletion, insertion or priming based modifications. In addition, the variations in RAPD profiles could be explained by stress conditions caused by the volatile lipid content applied to tested plants. The fact that the GTS values approach to control levels with increasing concentrations could be explained as the reasons for mutations at low concentrations of volatile lipids applied. The high levels of concentrations, however, could trigger antimutagenic effects on the plants encountered with diverse conditions. The chemical composition and quantities of the volatile lipids may also affect the experimental results through dose-dependent applications. For instance, intercellular redox potentials and mitochondrial malfunctioning in cells may stem from the adverse effects of the variable contents of volatile lipids. The AFLP profiles identified

more different than RAPD results point out that the genomic DNA manipulations could arise not only from mutations but also epigenetic modifications such as DNA methylation-based gene silencing. The increasing amounts of soluble proteins in root cells as compared to control could be evaluated as the possible reactions of plants against stress conditions. The increases in the amounts of prolin amino acids in plants as a reaction to various stress conditions can be given as a remarkable example of this situation. This plant-based reaction is primarily a defense-intended adaptation against adverse environmental parameters which could differ from plant to plant. It was also identified that while the soluble proteins in root samples increased, the stem samples showed reverse tendency. The large quantities of inhibition identified in SDS-PAGE profiles as similar to previous parameters could be explained as plausible results of the variations that occurred on the non-functional regions of genomic DNA. Decomposition of the total oil and application of each substance individually will allow us to know the target close effects.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Ataturk University BAP (2010/271) head office as a part of the corresponding author's PhD thesis.

REFERENCES

- [1] Fletcher J., Bender C., Budowle B., Cobb W., Gold S., Ishimaru C., Luster D., Melcher U., Murch R., Scherm H. Plant pathogen forensics: capabilities, needs, and recommendations, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 70:2 450-471, 2006.
- [2] Sodaeizadeh H., Rafieiolhossaini M., Van Damme P. Herbicidal activity of a medicinal plant, *Peganum harmala* L., and decomposition dynamics of its phytotoxins in the soil, *Indust. Crops Prod.*, 31:2 385-394, 2010.
- [3] Bozari S., Agar G., Aksakal O., Erturk F.A., Yanmis D. Determination of chemical composition and genotoxic effects of essential oil obtained from *Nepeta nuda* on *Zea mays* seedlings, *Toxicol. Industr. Health*, 29:4 339-348, 2013.
- [4] Gormez A., Bozari S., Yanmis D., Gulluce M., Agar G., Sahin F. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil obtained from *Nepeta nuda* against phytopathogenic bacteria, *J. Essent. Oil Res.*, 25:2 149-153, 2013.
- [5] Cordell G.A. Biodiversity and drug discovery-a symbiotic relationship, *Phytochemistry*, 55:6 463-480, 2000.
- [6] Kobayashi K., Itaya D., Mahatamnuchoke P., Pornprom T. Allelopathic potential of itchgrass (*Rottboellia exaltata* L.) powder incorporated into soil, *Weed Biol. Manag.*, 8:1 64-68, 2008.
- [7] Heywood V.H., Flowering plants of the world, BT Batsford Ltd, 1993.
- [8] Castro-Vázquez L., Díaz-Maroto M., González-Viñas M., Pérez-Coello M. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis, *Food Chem.*, 112:4 1022-1030, 2009.
- [9] Ben Farhat M., Jordán M.a.J., Chaouech-Hamada R., Landoulsi A., Sotomayor J.A. Variations in essential oil, phenolic compounds, and antioxidant activity of tunisian cultivated *Salvia officinalis* L., *J,Agri. Food Chem.*, 57:21 10349-10356, 2009.
- [10] Cheung S., Tai J. Anti-proliferative and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis*, *Oncol. Rep.*, 17:6 1525-1532, 2007.
- [11] Takaki I., Bersani-Amado L., Vendruscolo A., Sartoretto S., Diniz S., Bersani-Amado C., Cuman R. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models, *J.Medic. Food*, 11:4 741-746, 2008.
- [12] Bozari S. Determination of the Genotoxic Effects of the Potential Allelopathic Essential Oils Obtained from Various Species of Lamiaceae Family, PHD, Biology, Atatürk University, 2012.
- [13] Oyedeji A., Afolayan A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from South African *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* (Thunb.) Briq., *The J. Essent.l Oil Res.*, 18: 57-59, 2006.
- [14] Mimica-Dukic N., Popovic M., Jakovljevic V., Szabo A., Gašić O. Pharmacological studies of *Mentha longifolia* phenolic extracts. II. Hepatoprotective activity, *Pharma. Biol.*, 37:3 221-224, 1999.
- [15] Liu W., Li P., Qi X., Zhou Q., Zheng L., Sun T., Yang Y. DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis, *Chemosphere*, 61:2 158-167, 2005.
- [16] Shultz R.W., Settlege S.B., Hanley-Bowdoin L., Thompson W.F. A trichloroacetic acid-acetone method greatly reduces infrared autofluorescence of protein extracts from plant tissue, *Plant Mol. Biol. Rep.*, 23:4 405-409, 2005.
- [17] Battal P. Tileklioğlu B. The effects of different mineral nutrients on the levels of cytokinins in maize (*Zea mays* L.), *Turk. J.Bot.*, 25: 123-130, 2001.
- [18] Cetin A., Bozari S. Study on the Synthesis, Antimicrobial Activity, and Rapd Analysis of 3-phenyl-1,5-bis(4-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-pyrazole, *J Biochem Tech.*, 11:3, 77-83.
- [19] Morris J.W., Dumas P., Morris R.O., Zaerr J.B. Cytokinins in vegetative and reproductive buds of *Pseudotsuga menziesii*, *Plant Physiol.*, 93:1 67-71, 1990.
- [20] Türker M., Battal P., Açar G., Güllüce M., Şahin F., Erez M., Yildirim N. Allelopathic effects of plants extracts on physiological and cytological processes during maize seed germination, *Allelopat. J.*, 21:2 273-286, 2008.
- [21] Erez M.E. *Lepidium draba* L., *Acroptilon repens* (L.) DC., *Thymus kotchyanus* Boiss&Hohen. var. *kotchyanus*, *Inula peacockiana* (Aitch.&Hemsl.) Koravin, *Salvia kronenburgei* Rech. f. ve *Phlomis armeniaca* Wild. Bitkilerinin Allelopatik etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Biology, Yüzcüncü yıl Üniversitesi, 2009.
- [22] Orhan F. *Mentha longifolia* L. Hudson Ssp. *Longifolia*'dan Elde Edilen Bazı Etken Maddelerin Ames/Salmonella ve Maya Delesyon Test Sistemleri ile Mutajen ve Antimutajen Özelliklerinin Belirlenmesi, phd, Biology, Atatürk University, 2010.
- [23] Ahmad N., Fazal H., Ahmad I., Abbasi B.H. Free radical scavenging (DPPH) potential in nine *Mentha* species, *Toxicol. Indust. Health*, 28:1 83-89, 2012.
- [24] Shah A.J., Bhulani N.N., Khan S.H., Gilani A.H. Calcium channel blocking activity of *Mentha longifolia*

- L. explains its medicinal use in diarrhoea and gut spasm, *Phytother. Res.*, 24:9 1392-1397, 2010.
- [25] Vokou D., Chalkos D., Karamanoli K., *Microorganisms and allelopathy: a one-sided approach*, Allelopathy, Springer, 2006.
- [26] Tripathi A.K., Prajapati V., Ahmad A., Aggarwal K.K., Khanuja S.P. Piperitenone oxide as toxic, repellent, and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Anophelinae), *J.Med. Entomol.*, 41:4 691-698, 2004.
- [27] Thomas S.G., Rieu I., Steber C.M. Gibberellin metabolism and signaling. *Vitamins and Hormones*, 72: 289-338, 2005.
- [28] Schempp H., Hippeli S., Elstner E.F., Hock B. *Plant stress: avoidance, adaptation, defense*, Plant Toxicol., 4th ed. New York: Marcel Dekker, 87-129, 2005.

Yazım Kuralları

Haziran ve Aralık sayısı olmak üzere yılda iki defa yayımlanan uluslararası hakemli bir dergidir. Derginin asıl amacı fen bilimleri, temel alanlar ve mühendislik alanlarında nitelikli akademik çalışmaların yayımlanmasına katkı yapmaktır.

Dergide yayımlanan makaleler yazı işlerinin izni olmaksızın başka hiç bir yerde yayımlanamaz veya bildiri olarak sunulamaz. Kısmen veya tamamen yayımlanan makaleler kaynak gösterilmeden hiçbir yerde kullanılamaz. Dergiye gönderilen makalelerin içerikleri özgün, daha önce herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere gönderilmemiş olmalıdır. Makaledeki yazarlar isim sırası konusunda fikir birliğine sahip olmalıdır.

*Makalenin hazırlanması sırasında yardımcı olması amacıyla, internet sitemizde yazarlar için linkinin altında yer alan **MSUFBD** Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmış "örnek_makale" dosyasını bilgisayarınıza indirmeniz ve makalenizi bu makaleyi örnek alarak hazırlamanız, düzenlemelerde kolaylık ve zaman tasarrufu sağlayacaktır. Bu makaleyi bilgisayarınıza Word programında şablon (template) olarak kaydederek de makalenizi hazırlayabilirsiniz.*

- Makaleler MS Word 2007 veya üstü bir sürümde hazırlanarak gönderilmelidir.
- Sayfa yapısı özel boyutta (15.5x23 cm), MS Word programında, Times New Roman veya benzeri bir yazı karakteri ile 10 punto, tek satır aralığıyla yazılmalıdır. Sayfa kenarlarında üst 2.5 cm olmak üzere diğer kenarlar için 2.5 cm boşluk bırakılmalı ve sayfalar numaralandırılmalıdır.
- Yazar(lar)ın ad(lar) ve soyad(lar), kurumsal unvanları; yazar(lar)ın görev yaptığı kurum(lar) ve e-posta adres(ler) bilgileri verilmelidir. Ayrıca makalelerde sorumlu yazar belirtilmelidir. Times New Roman 10 punto, tek satır aralığıyla yazılmalıdır.
- Makale başlığı, içerikle uyumlu, içeriği en iyi ifade eden bir başlık olmalıdır. Başlık, kalın ve 12 punto büyüklüğünde olmalı ve ilk harfler büyük olacak şekilde sayfa ortalanarak yazılmalıdır. Makaleler aynı özellikte İngilizce bir başlık/title içermelidir.
- Makalenin başında, konuyu kısa ve öz biçimde ifade eden ve en az 75, en fazla 150 kelimedenden oluşan Türkçe "Öz" bulunmalıdır. Öz içinde, yararlanılan kaynaklara, şekil ve çizelge numaralarına değinilmemelidir. Adres/ler den 2 satır boşluk bırakıldıktan sonra, Times New Roman 10 punto, tek satır aralığıyla yazılmalıdır. Özün altında bir satır boşluk bırakılarak, en az 3, en çok 6 sözcükten oluşan anahtar kelimeler verilmelidir. Anahtar kelimeler makale içeriği ile uyumlu ve kapsayıcı olmalıdır. Aynı şekilde makaleler İngilizce bir başlık/title, anahtar sözcükler/keywords ve öz/abstract içermelidir.
- **MSUFBD**'in yayın dili Türkçe ve İngilizcedir.
- Herhangi bir sempozyum veya kongrede sunulmuş olan çalışmalar kongrenin adı, yeri ve tarihi belirtilerek yayımlanabilir. Bir araştırma kurumu veya fonu tarafından desteklenen çalışmalarda desteği sağlayan kuruluşun adı ve proje numarası verilmelidir.
- Makaleler Giriş, Materyal ve Metod, Deneysel Kısım, Gereç ve Yöntem, Tartışma, Sonuç vb. yer alacak şekilde hazırlanmalı ve alt başlıklar ikinci derece başlıklar Times New Roman 10 punto ile sağa hizalı olarak düzenlenmelidir.
- Formüller ve denklemler Math Type ya da Word Denklem Düzenleyici kullanılarak yazılmalıdır.
- Çalışma, dil bilgisi kurallarına uygun olmalıdır. Makalede noktalama işaretlerinin kullanımında, kelime ve kısaltmaların yazımında en son çıkan TDK Yazım Kılavuzu esas alınmalı, açık ve yalın bir anlatım yolu izlenmeli, amaç ve kapsam dışına taşan gereksiz bilgilere yer verilmemelidir. Makalenin hazırlanmasında geçerli bilimsel yöntemlere uyulmalı, çalışmanın konusu, amacı, kapsamı, hazırlanma gerekçesi vb. bilgiler yeterli ölçüde ve belirli bir düzen içinde verilmelidir.
- Bir makalede sırasıyla özet, ana metnin bölümleri, kaynakça ve (varsa) ekler bulunmalıdır. Makalenin bir "Giriş" ve bir "Sonuç" bölümü bulunmalıdır. "Giriş" çalışmanın amacı, önemi, dönemi, kapsamı, veri metodolojisi ve planını mutlaka kapsamalıdır. Konu gerektiriyorsa literatür tartışması da bu kısımda verilebilir. "Sonuç" araştırmanın amaç ve kapsamına uygun olmalı, ana çizgileriyle ve öz olarak verilmelidir. Metinde sözü edilmeyen hususlara "Sonuç"ta yer verilmemelidir. Belli bir düzen sağlamak amacıyla ana, ara ve alt başlıklar kullanılabilir.
- Tablo/Şekillerin numarası ve başlığı bulunmalıdır. Tablo çiziminde dikey çizgiler kullanılmamalıdır. Yatay çizgiler ise sadece tablo içindeki alt başlıkları birbirinden ayırmak için kullanılmalıdır. Tablo/Şekil numarası üste, tam sola dayalı olarak Times New Roman 10 punto yazılmalı; tablo/şekil adı ise, her sözcüğün ilk harfi büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Ayrıca tablo/şekiller siyah beyaz baskıya uygun hazırlanmalıdır.
- Makalede, düzenli bir bilgi aktarımı sağlamak üzere ana, ara ve alt başlıklar kullanılabilir. Makale başlığı dışındaki diğer tüm başlıklar 10 punto yazılmalıdır. Birinci derece başlıklar büyük ve koyu karakterde; ikinci derece başlıklar, yalnız ilk harfleri büyük ve koyu olmayan; üçüncü derece başlıklar ise yalnız ilk harfleri büyük, koyu olmayan ve italik harflerle yazılmalıdır. Ayrıca başlıklar, öncesi ve sonrası 6 nk olacak şekilde ayarlanmalıdır.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

BİRİNCİ DERECE BAŞLIK

İkinci Derece Başlık

Üçüncü Derece Başlık

- Kaynak göstermede makale içerisinde “köşeli parantez içerisinde numara” ile yazılmalıdır. Her kaynak kendi orijinal dilinde verilmelidir. Kaynaklar Times New Roman 9 punto ile yazılmalıdır. Kaynaklar yazılırken sıralama aşağıdaki şekilde olmalıdır:
- Chen Y. R., Chao K., Kim M. S. Machine vision technology for agricultural applications, Computers and Electronics in Agriculture, 36, 173-191, 2002.
- Kumar A. Computer vision based fabric defect detection: a survey, IEEE Transactions on Industrial Electronics, 55, 348-363, 2008.
- Yetis H., Baygin M., Karaköse M. A New Micro Genetic Algorithm Based Image Stitching Approach for Camera Arrays at Production Lines, The 5th International Conference on Manufacturing Engineering and Process (ICMEP 2016), 25-27 May, 2016.
- Aydın I., Karaköse E., Karaköse M., Gençoğlu M.T., Akın E., A New Computer Vision Approach for Active Pantograph Control, IEEE International Symposium on Innovations in Intelligent Systems and Applications (IEEE INISTA 2013), Albena, Bulgaria, 2013.
- Lim S. H. Video-processing applications of high speed cmos image sensors, The Degree of Doctor of Philosophy, Stanford University, 2003.
- **MSUFBD'e** yazım kurallarına uygun olarak gönderilen makaleler, daha sonraki aşamada intihal denetiminden geçirilir. Dergide intihal denetimi iThenticate programı ile yapılmaktadır ve intihal denetiminde kabul edilebilir benzerlik oranı en fazla %20 olmalıdır.
- Yayım aşamasının ilk adımı için makaleler Online Başvuru Sistemi aracılığıyla yollanmalıdır. Başvurunun hemen ardından elektronik posta adresinize otomatik olarak bir onay mesajı gönderilecektir. Daha fazla bilgi için <http://dergipark.gov.tr/msufbd> elektronik adresi aracılığıyla editörümüzle bağlantıya geçilebilir.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Instructions for Authors

MSUFBD is an international peer-reviewed journal that is published two times a year. The purpose of the journal is to make contributions to publishing qualified academic studies in sciences, basic and engineering areas.

The articles that are published in the journal cannot be published or presented anywhere else unless permission is granted from the editorial board. The articles that are published either partially or completely cannot be used anywhere else unless reference is given. The content of the articles that are sent to the journal has to be authentic, not previously published or sent to be published. The authors of the articles have to have a consensus regarding the list of the names in the article.

If you download the "sample article" that was prepared according to spelling rules and format of the **MSUFBD** Journal from our website through the link for authors to help you prepare the article, this will save your time and facilitate the preparation process. You can also prepare your article by saving this sample as a template on the Microsoft Word program.

- The articles should be in MS Word 2007 or higher version.
- The layout has to be custom-designed (15.5x23 cm). The file format has to be MS Word. The font has to be Times New Roman or a similar one with a size of 10. The file has to have single-line spacing. Page margins have to be 2.5 cm on the top and 2.5 cm for all the other sides. The pages have to be numbered.
- The articles need to include the name(s), surname(s), institutional title(s), institution name(s), and e-mail address(es) of the author(s). In addition, the corresponding author has to be indicated in the articles. The font has to be Times New Roman with a size of 10 and single line spacing.
- The title of the article has to be consistent with the content and must reflect the content in the best way possible. The title has to be boldface with a font size of 12. The first letter of all the words has to be uppercase. The title has to be centered. The articles need to have an English title with the same properties.
- The article needs to include an "Abstract" at the beginning not less than 75 words nor longer than 150 words summarizing the content in the most precise and concise way. The abstract must not include references, figures, and table numbers. Leaving a space under the abstract, the author has to add keywords including at least 3 and utmost 6 words. The keywords have to be consistent with the content and need to be comprehensive. Similarly, the articles have to include an English title, keywords, and abstract.
- **MSUFBD** is published in Turkish and English.
- The works that are presented in any symposium or congress can be published after specifying the name, place and the date of the congress. The works that are supported by a research organization or fund have to indicate the name of the supportive organization and the number of project.
- The articles have to be organized as introduction, body, experimental, result and discussion and conclusion. Sub-titles and lower-level titles have to have a font size of 10 and be right-aligned.
- Formulas and equations need to be written via Math Type or Word Equation Editor.
- The study has to comply with grammatical rules. The latest Turkish Language Association Spell Check has to be employed regarding the use of punctuation, spelling of the words, and abbreviations. The text is expected to be clear and simple. No expressions out of purpose and scope must be included in the work. The valid scientific methods have to be employed to prepare the article. The content, purpose, scope, justification, etc. of the study have to be provided as much as needed in a certain order.
- An article is expected to include abstract, sections of the main text, references, and appendices (if there is any) respectively. An article has to have an "Introduction" and "Conclusion" sections. The "Introduction" is definitely expected to include the purpose, importance, period, scope, data methodology, and outline of the study. If it is necessary for the subject to be dealt with, literature review can be given in this section as well. The "conclusion" needs to be in compliance with the study's purpose and scope. It needs to be given generally and concisely. The points that are not mentioned within the text must not be included in "conclusion". Headings, titles, and sub-titles can be used to organize the text.
- Tables/Figures need to be numbered and given with their titles. No vertical lines must be used to draw the tables. Horizontal lines can only be used to separate the sub-titles within the table from each other. Table/Figure number has to be at the top left-aligned and non-Italic with Times New Romans 10 font. The name of tables/figures has to be written with each word having its first letter uppercase. In addition, tables/figures have to comply with black and white print. If there is anything in the table that requires reference, the references must be given at the bottom of the table with in-text reference format.
- Headings, titles, and sub-titles can be used to ensure an ordered information transfer. All the other titles except for the title of the article have to have a font size of 10. First-level titles need to be uppercase and boldface; the first letters of

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

all the words in the second-level titles need to be uppercase and not boldface; and only the first letters of the words in the third-level titles need to be uppercase, and these titles have to be italic. In addition, the titles have to be organized with 6 nk before and after the title.

FIRST-LEVEL TITLE

Second-Level Title

Third-level Title

(i) The reference should be marked with "number in square brackets" in the article. Each reference must be given in its original language. The references should be written in Times New Roman 9 point. When writing the references, the sequence should be as follows:

- Chen Y. R., Chao K., Kim M. S. Machine vision technology for agricultural applications, Computers and Electronics in Agriculture, 36, 173-191, 2002.
 - Kumar A. Computer vision based fabric defect detection: a survey, IEEE Transactions on Industrial Electronics, 55, 348-363, 2008.
 - Yetis H., Baygin M., Karaköse M. A New Micro Genetic Algorithm Based Image Stitching Approach for Camera Arrays at Production Lines, The 5th International Conference on Manufacturing Engineering and Process (ICMEP 2016), 25-27 May, 2016.
 - Aydın I., Karaköse E., Karaköse M., Gençoğlu M.T., Akin E., A New Computer Vision Approach for Active Pantograph Control, IEEE International Symposium on Innovations in Intelligent Systems and Applications (IEEE INISTA 2013), Albena, Bulgaria, 2013.
 - Lim S. H. Video-processing applications of high speed cmos image sensors, The Degree of Doctor of Philosophy, Stanford University, 2003.
- The manuscripts that comply with the publication principles of anemon are passed through plagiarism checking. The journal uses the Ithenticate software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. If the similarity level is above %20, the manuscript is not accepted for publication.
 - The articles are sent through Online Application System for the first step of the publication. An automatically-sent confirmation message is sent to your e-mail address upon the completion of the application. For further information, please contact the editor via <http://dergipark.gov.tr/msufbd>.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Değerlendirme Süreci

- **MSUFBD'e** gönderilen yazılar, önce Yayın Kurulunca dergi ilkelerine uygunluk açısından bir ön değerlendirmeye tabi tutulur. Dergi kapsamına girmeyen veya bilimsel bir yazı formatına içerik ve şekil şartları açısından uymayan yazılar, hakemlik süreci başlatılmadan geri çevrilir ya da bazı değişiklikler istenebilir. Yayın için teslim edilen makalelerin değerlendirilmesinde akademik tarafsızlık ve bilimsel kalite en önemli ölçütlerdir.
- **MSUFBD'e** yayın kurallarına uygun olarak gönderilen makaleler, daha sonraki aşamada intihal denetiminden geçirilir. Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi'nde intihal denetimi, Ithenticate paket programı aracılığıyla gerçekleştirilmekte ve intihal denetiminde, benzerlik oranının %20'nin üstüne çıkmaması gerekmektedir. İlgili çalışmada herhangi bir intihale rastlanmadığı takdirde değerlendirilmek üzere o alandaki çalışmalarıyla tanınmış iki hakeme gönderilir. **MSUFBD** Dergisi, sürecin her aşamasında, hakem ve yazarların isimlerinin saklı tutulduğu çift-kör hakemlik sistemini kullanmaktadır. Hakem raporlar beş yıl süreyle saklanır. Makaleyi değerlendiren iki hakemden birisinin olumlu diğerinin olumsuz rapor vermesi durumunda makale üçüncü hakeme gönderilmekte veya Yayın Kurulu, hakem raporlarını inceleyerek nihai kararı vermektedir.
- **MSUFBD'e** gönderilen çalışmalarda yazarlar, hakem ve Yayın Kurulunun eleştiri ve önerilerini dikkate alırlar. Katılmadıkları hususlar varsa gerekçeleriyle birlikte itiraz etme hakkına sahiptirler. Dergideki hakemlik sürecinde, akademik unvana sahip kişilerin yayınları için ancak eşit ya da üst derecede akademik unvana sahip kişiler hakem olabilir.
- **MSUFBD'e** hakem değerlendirme süreci, istenilmeyen nedenlerden dolayı bazen uzun sürebilmektedir. Normal koşullarda editör tarafından ön değerlendirme aşaması bir hafta; hakem değerlendirme süreci de 8 hafta olarak planlanmaktadır. Ancak hakemlerden zamanında dönüş olmaması nedeniyle yeniden hakem atama vb. nedenlerden dolayı hakem değerlendirme süreci uzayabilmektedir.
- **MSUFBD'e** makale gönderen yazar/yazarlar, Derginin söz konusu hakem değerlendirme koşullarını ve sürecini kabul etmiş sayılırlar.
- **MSUFBD'de** yayımlanmasına karar verilen (kabul edilen) çalışmaların telif hakkı, Muş Alparslan Üniversitesi'ne devredilmiş sayılır.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Peer Review Process

- The papers that are sent to **MSUFBD** are subjected to preliminary assessment by the Editorial Board to see whether the work complies with the principles of the journal. The papers that are out of the scope of the journal or do not comply with the format of a scientific text either in terms of content or style are either rejected or demanded to be corrected prior to peer-review process. Academic objectivity and scientific quality are the most important criteria for the assessment of the articles that are submitted to be published.
- The articles that comply with the publication principles of **MSUFBD** are passed through plagiarism checking. Journal of Social Sciences of Muş Alparslan University uses the iThenticate software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. The journal allows an overall similarity of 20% for a manuscript to be considered for publication. After determining an acceptable similarity rate, the article is sent to two reviewers who are known for their studies in the relevant field. **MSUFBD** employs double-blind review system in which the names of neither the reviewers nor the authors are disclosed in any of the phases of the process. Reviewer reports are saved for five years. If one of the reviewers gives positive feedback while the other gives negative feedback, the article is either sent to a third reviewer or Editorial Board examines the reviewer reports to make the final decision.
- The authors submitting papers to **MSUFBD** take into account the criticisms and suggestions of the reviewers and the Editorial Board. The authors also have the right to object to the points with which they disagree. In the reviewing process, the publications of people with academic titles are only reviewed by academics of either an equal or a higher degree.
- Assessment process of **MSUFBD** may sometimes take long periods of time due to undesired reasons. Normally, preliminary assessment by the editor takes a week while reviewer's assessment period takes 8 weeks. However, reviewer assessment process may get longer when reviewers do not respond on time or in cases of appointing a new reviewer and so on.
- The author/authors submitting papers to **MSUFBD** is/are considered to have accepted the aforementioned reviewing conditions and process of the journal.
- The copyrights of the works that are decided to be published (accepted) in **MSUFBD** is transferred to Muş Alparslan University.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yayın İlkeleri

- **MSUFBD**, ulusal ve uluslararası düzeyde yapılan, fen, temel alanlar ve mühendislik bilimleri alanında özgün ve nitelikli çalışmaları, bilimsel bir yaklaşımla ele alarak fen bilimler alanlarındaki çalışmaların niteliğinin yükselmesine, yöntem ve uygulamaların gelişmesine, kuram ve uygulama alanlarındaki çalışmalar arasında iletişimin güçlenmesine ve fen bilimleri alanındaki literatürün zenginleşmesine katkı sağlamak amacıyla yayımlanmaktadır.
- **MSUFBD**'e, matematik, fizik, kimya, biyoloji, çevre bilimi, sağlık, eczacılık, mühendislik bilimleri vb. tüm fen bilimlerine ait özgün ve nitelikli bilimsel çalışmaları destekleyerek bilim camiasında üretilen bilgileri akademisyenlerin ve kamuoyunun istifadesine sunmak amacıyla yeni ve özgün çalışmalara yer verilmektedir.
- **MSUFBD**'e gönderilecek çalışma, alanında bir boşluğu dolduracak özgün bir yazı olmalı ya da daha önce yayımlanmış çalışmaları değerlendiren, konuya dair yeni ve dikkate değer görüşler ortaya koyan inceleme olmalıdır.
- **MSUFBD**'e gönderilecek yazılar makale, çeviri ve kitap tanıtımı türünde olmalıdır. Dergimize gönderilen çeviri yazılar için, makale sahibinin yayın izni ve orijinal metin gereklidir.
- **MSUFBD**'e yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.
- **MSUFBD**'e gönderilen çalışmalar daha önce hiçbir yerde yayımlanmamış ve halihazırda yayımlanmak üzere sunulmamış olmalıdır. Bilimsel bir toplantıda sunulmuş bildiriler, durum açıkça belirtilmek şartıyla dergiye gönderilebilir.
- **MSUFBD**'e Kış/Aralık ve Yaz/Haziran sayısı olmak üzere yılda iki defa düzenli olarak yayımlanmaktadır.
- **MSUFBD**'e gönderilen yazılara telif hakkı ödenmez. Yayımlanan makalelerin telif hakkı Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimler Dergisi'ne aittir.
- **MSUFBD**'de yayımlanan yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.
- **MSUFBD**'de yer alan yazılardaki görüş ve düşünceler yazarlarının kişisel görüşleri olup derginin ve bağlı olduğu kurumların görüşlerini yansıtmaz.
- **MSUFBD**'e gönderilen çalışmalar, TÜBİTAK ULAKBİM'in DergiPark Sistemi (UDS) üzerinden elektronik ortamda gönderilmektedir. Bu sisteme <http://dergipark.gov.tr/msufbd> da yer alan "Kullanıcı Sayfası/Yeni Gönderi" linkinden ulaşılabilir. Söz konusu sisteme kayıt yapıp makale gönderildikten sonra hakem süreciyle ilgili gelişmeler ve hakem değerlendirme raporları yazarlar tarafından kolaylıkla takip edilebilir.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Editorial Principles

- **MSUFBD** is a national and international peer-reviewed journal that publishes authentic and qualified works with a scientific approach in the fields of science, basic and engineering sciences. It is published to contribute to raising the quality of the social sciences studies, development of methods and practices, to strengthen the communication between theoretical and practical studies, and to enrich the science literature.
- **MSUFBD** supports all the authentic and qualified scientific studies in the science fields including maths, physic, chemistry, biology, health, pharmacy, engineering sciences *etc.* It publishes new and authentic works to offer the knowledge produced by scientific circles for the benefit of academics and public.
- The works that are sent to **MSUFBD** must be both an authentic work to eliminate a lack in the literature or a review assessing the previously-published works and suggesting relevant, new, and noteworthy opinions.
- The texts that are sent to **MSUFBD** include articles, translations, and book promotions. For the translated texts, publication permission of the owner of the article and the source text are required.
- Publication languages of **MSUFBD** are Turkish and English.
- The works that are sent to **MSUFBD** must not be published previously anywhere. They have to be ready for publication. The papers that have previously been presented in a scientific meeting can be sent to the journal if it is clearly indicated.
- **MSUFBD** is regularly published in Winter/December and Summer/June per year.
- No copyright payment is made for the papers that are sent to **MSUFBD**. The copyrights of the works that are published in **MSUFBD** are transferred to Mus Alparslan University Journal of Science.
- Scientific and legal liabilities of the articles published in **MSUFBD** belong to the authors.
- All the opinions and ideas indicated in the articles that are published in **MSUFBD** are authors' personal opinions and do not reflect the opinions of the Journal or the affiliated institutions by any means.
- The works that are sent to **MSUFBD** are sent to TUBITAK ULAKBIM's DergiPark System (UDS) in electronical environment. This system can be accessed via <http://dergipark.gov.tr/msufbd> under the link "User Page/New Submission". After registering in the system and submitting the paper, the developments regarding the reviewing process and reviewer reports can be followed by the authors.

MSUFBD
Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi
Mus Alparslan University Journal of Science

Yazışma Adresi / Address

Muş Alparslan Üniversitesi
MSUFBD Dergi Editörlüğü

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
49250 – MUŞ/TÜRKİYE
Tel: 0 436 249 49 49 / 3671 - Fax: 0 436 213 00 28
Web: <http://dergipark.gov.tr/msufbd>
e-mail: msufbd@alparslan.edu.tr