

Van Yuzuncu Yil University
Faculty of Agriculture

**YUZUNCU YIL UNIVERSITY
JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES**

YYU J AGR SCI

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ**

YYÜ TAR BİL DERG

ISSN 1308-7576
e-ISSN 1308-7584

VAN - TURKEY

Volume: 32

Issue: 1

March 2022



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



YUZUNCU YIL UNIVERSITY JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES

(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

Volume: 32

Issue: 1

March 2022

ISSN: 1308-7576, e-ISSN: 1308-7584

Owner

On Behalf of Yuzuncu Yil University Faculty of Agriculture

(Dean)

Prof. Dr. Murat TUNÇTÜRK

Manager in Charge / Chief Editor

Assoc. Prof. Dr. Tamer ERYİĞİT

Scope of Journal

Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences covers topics of such as; Plant production (biotechnology, field crops, horticulture, plant protection, etc.), Animal production (animal and aquaculture production, etc.), Soil sciences (soil ecology, soil physics, soil chemistry, etc.), Others (agricultural irrigation, agricultural structures, agricultural energy systems, etc., food science, food technology, etc. with sustainable farming systems, etc.).

Associated Editors

Assoc. Prof. Dr.	ERDİNÇ, Çeknas	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assist. Prof. Dr.	ÇAKMAKCI, Talip	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van

Editorial Board

Prof. Dr.	ÇELEN, Ahmet Esen	Ege Universtiy, Faculty of Agriculture, İzmir
Prof. Dr.	KIJJOA, Anake	University of Porto, Biomedical Sciences Institute of Abel Salazar, Porto
Prof. Dr.	SALAMON, Ivan	University of Presov in Presov, Department of Ecology, Prešov,
Prof. Dr.	TUNÇTÜRK, Murat	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assoc. Prof. Dr.	ERDİNÇ, Çeknas	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assoc. Prof. Dr.	ERDOĞAN, Sibel	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assoc. Prof. Dr.	ERYİĞİT, Tamer	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assoc. Prof. Dr.	USTA, Mustafa	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van

Statistical Consultants

Prof. Dr.	TAKMA, Çiğdem	Ege University, Faculty of Agriculture, İzmir
Prof. Dr.	YEŞİLOVA, Abdullah	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assoc. Prof. Dr.	SER, Gazel	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van



Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



Language Consultants

Assist. Prof. Dr.	ÇAKMAKÇI, Cihan	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van
Assist. Prof. Dr.	TAŞKIN, Bilgin	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Van

Advisory Board

Prof. Dr.	ALP, Şevket	Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	DANESH, Younes Rezaee	Bitki Koruma / Plant Protection, Urmia University, Iran
Prof. Dr.	DEMİREL, Murat	Hayvan Besleme / Animal Nutrition, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	GÜLSER, Füsün	Top. Bil. ve Bit. Bes. / Soil Science and Plant Nutrition, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	KIJJOA, Anake	Abel Salazar Biyomedikal Bilimleri Enstitüsü/ Biomedical Sciences Institute of Abel Salazar, University of Porto, Portugal
Prof. Dr.	LUDIDI, Ndomelele Ndiko	Biyoteknoloji / Department of Biotechnology, University of The Western Cape, South Africa
Prof. Dr.	OKUT, Hayrettin	Department of Population Health, University of Kansas, USA
Prof. Dr.	ÖZTÜRK, Özden	Tarla Bitkileri / Field Crops, Selçuk University
Prof. Dr.	TUNÇTÜRK, Yusuf	Gıda Mühendisliği / Food Science, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	TÜRKOĞLU, Nalan	Süs Bitkileri / Ornamental Plant Production, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	SALAMON, Ivan	Ekoloji / Department of Ecology, University of Presov, Slovakia
Prof. Dr.	ŞEKEROĞLU, Nazım	Bahçe Bitkileri / Department of Horticulture, Kilis 7 Aralık University
Prof. Dr.	ŞEN, Fazıl	Su Ürünleri / Fisheries, Van Yuzuncu Yil University

Section Editors and Scientific Board

Prof. Dr.	AKSOY, Adem	Tarım Ekonomisi / Agricultural Economics, Atatürk University
Prof. Dr.	ARPALI, Diğdem	Tarla Bitkileri / Field Crops, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	AYKUT TONK, Fatma	Tarla Bitkileri / Field Crops, Ege University
Prof. Dr.	ÇALIŞKAN, Sevgi	Bitkisel Üret. Ve Tek. / Plant Production and Tech., Niğde Ömer Halisdemir University
Prof. Dr.	EKİNCİ, Melek	Bahçe Bitkileri / Horticulture, Ataturk University
Prof. Dr.	ERDOĞAN, Reyhan	Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Akdeniz University
Prof. Dr.	GHAVİ HOSSEİN-ZADEH, Navid	Hayvan Yetiştirme ve Genetik / Animal Breeding and Genetics, University of Guilan
Prof. Dr.	HEPAKSOY, Serra	Bahçe Bitkileri / Horticulture, Ege University
Prof. Dr.	IBRALIU, Alban	Bitkisel Üretim / Crop Production, Agricultural University of Tirana, Albania
Prof. Dr.	ISLAM, Mohammad Sohedul	Tarım Bilimleri Bölümü / Department of Agronomy, Hajee Mohammad Danesh Science and Technology University
Prof. Dr.	KIJJOA, Anake	Abel Salazar Biyomedikal Bilimleri Enstitüsü/ Biomedical Sciences Institute of Abel Salazar, University of Porto, Portugal
Prof. Dr.	KURTAR, Ertan Sait	Bahçe Bitkileri / Horticulture, Selçuk University
Prof. Dr.	LUDIDI, Ndomelele Ndiko	Bitkisel Biyoteknoloji / Plant Biotechnology, Univ. of the Western Cape, South Africa
Prof. Dr.	MARIOD, Abdalbasit	Yağ Teknolojisi / Oil Technology, Ghibaish College Of Science & Technology
Prof. Dr.	ÖZGÖKÇE, M. Salih	Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yuzuncu Yil University
Prof. Dr.	SALAMON, Ivan	Ekoloji / Ecology, University of Presov, Ukraine
Prof. Dr.	ŞAHİN, Üstün	Tarımsal Yapılar ve Sulama / Agricultural Structures and Irrigation, Atatürk University
Prof. Dr.	TUNÇTÜRK, Rüyeyde	Tarla Bitkileri / Field Crops, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	AĞLAR, Erdal	Bahçe Bitkileri / Horticulture, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	AMİRNİA, Reza	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler / Medicinal and Aromatic Plants, Urmia University
Assoc. Prof. Dr.	BAKKALBAŞI, Emre	Gıda Mühendisliği / Food Science, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	BALOSCH, Faheem Shehzad	Bitki Koruma / Plant Protection, Sivas University of Science and Technology
Assoc. Prof. Dr.	DEDEOĞLU, Mert	Toprak Bilimi / Soil Science, Selçuk University
Assoc. Prof. Dr.	DEMİRER DURAK, Emre	Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	DEMİROĞLU TOPÇU, Gülcan	Tarla Bitkileri / Field Crops, Ege University
Assoc. Prof. Dr.	DETHOUP, Tida	Bitki Patolojisi / Department of Plant Pathology, Kasetsart University
Assoc. Prof. Dr.	FAİD-ALLAH, Eslam	Hayvansal Üretim / Animal Production, Menofia University
Assoc. Prof. Dr.	FAYED, Marwa	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler / Medicinal and Aromatic Plants, University of Sadat City
Assoc. Prof. Dr.	İNCİ, Hakan	Zootekni / Animal Science, Bingöl University



Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



Assoc. Prof. Dr.	KARACA, Serhat	Hayvan Yetiştirme ve Islahı / Animal Breeding, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	KENDAL, Enver	Tarla Bitkileri / Field Crops, Mardin Artuklu University
Assoc. Prof. Dr.	KIZILGECİ, Ferhat	Tohumculuk Teknolojisi / Seed Cultivation Technology, Mardin Artuklu University
Assoc. Prof. Dr.	SHAHID, M. Qasim	Tarımsal Biyoteknoloji /Agricultural Biotech., South China Agricultural Univ., China
Assoc. Prof. Dr.	ŞATIR, Onur	Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	TERZİ, Ertuğrul	Su Ürünleri / Fisheries, Kastamonu University
Assoc. Prof. Dr.	TÖLÜ, Cemil	Zootekni / Zootechnics, Çanakkale Onsekiz Mart University
Assoc. Prof. Dr.	TUNCER, Burcu	Bahçe Bitkileri / Horticulture, Van Yuzuncu Yil University
Assoc. Prof. Dr.	YERĞİN ÖZKAN, Reyyan	Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yuzuncu Yil University
Assist. Prof. Dr.	IQBAL, Muhammad Aamir	Agronomi / Agronomy, University of Poonch Rawalakot
Assist. Prof. Dr.	POLAT YEMİŞ, Gökçe	Gıda Mühendisliği / Food Science, Sakarya University
Dr.	SHRESTHA, Jiban	Nepal Agricultural Research Council (NARC), National Plant Breeding and Genetics Research Centre (NPBGRC), Nepal
Dr.	SALLEH, Wan Mohd Nuzul Hakimi Wan	Fen ve Matematik Fakültesi / Faculty of Science and Mathematics, Universiti Pendidikan Sultan Idris

Referee List in This Number

Prof. Dr.	BADRİA, Farid	Mansoura University, Faculty of Agriculture, EGYPT
Prof. Dr.	DEMİR, Semra	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, VAN
Prof. Dr.	HATİPOĞLU, Rüştü	Çukurova University, Faculty of Agriculture, ADANA
Prof. Dr.	İMREN, Mustafa	University of Bolu Abant Baysal, Faculty of Agriculture, BOLU
Prof. Dr.	KAYIŞ, Şevki	Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, RİZE
Prof. Dr.	ÖZER, Nuray	Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ
Prof. Dr.	SATAR, Ali	Dicle University, Faculty of Science, DİYARBAKIR
Prof. Dr.	TONÇER, Özlem	Dicle University, Agriculture Vocational School, DİYARBAKIR
Prof. Dr.	YERLİKAYA KEBAPÇIOĞLU, Pınar	Akdeniz University, Faculty of Fisheries, ANTALYA
Prof. Dr.	YILDIRIM, Ertan	Atatürk University, Faculty of Agriculture, ERZURUM
Assoc. Prof. Dr.	AĞIRBAŞ, Ertuğrul	Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, RİZE
Assoc. Prof. Dr.	AKTAŞ, Hüsnü	Mardin Artuklu University, Vocational Higher School of Kızıltepe, MARDİN
Assoc. Prof. Dr.	DEMİR, Nuray	Atatürk University, Faculty of Agriculture, ERZURUM
Assoc. Prof. Dr.	DEMİRER DURAK, Emre	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, VAN
Assoc. Prof. Dr.	DEMİROK SONCU, Eda	Ankara University, Faculty of Engineering, ANKARA
Assoc. Prof. Dr.	ERGEZER, Haluk	Pamukkale University, Faculty of Engineering, DENİZLİ
Assoc. Prof. Dr.	EVEREST, Bengü	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Agriculture, ÇANAKKALE
Assoc. Prof. Dr.	GÖZÜAÇIK, Celalettin	Iğdır University, Faculty of Agriculture, IĞDIR
Assoc. Prof. Dr.	KARA, Abdurrahman	Dicle University, Faculty of Agriculture, DİYARBAKIR
Assoc. Prof. Dr.	KIRALAN, Sündüz Sezer	Balıkesir University, Faculty of Engineering, BALIKESİR
Assoc. Prof. Dr.	MERAL, Raciye	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Engineering, VAN
Assoc. Prof. Dr.	ORAL, Erol	Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, VAN
Assoc. Prof. Dr.	ÖRS CIRIK, Selda	Atatürk University, Faculty of Agriculture, ERZURUM
Assoc. Prof. Dr.	SAYAR, Mehmet Salih	Dicle University, Vocational Higher School of Bismil, DİYARBAKIR
Assoc. Prof. Dr.	SELİM, Ceren	Akdeniz University, Faculty of Architecture, ANTALYA
Assoc. Prof. Dr.	TOKTAY, Halil	Niğde Ömer Halisdemir University, Faculty of Agricultural Science and Technology, NİĞDE
Assoc. Prof. Dr.	UÇAK, Ali Beyhan	Siirt University, Faculty of Agriculture, SİİRT
Assoc. Prof. Dr.	USLU, Leyla	Çukurova University, Faculty of Fisheries, ADANA
Assist. Prof. Dr.	BAYAV, Alamettin	Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, ISPARTA
Assist. Prof. Dr.	ÇOŞKUN, Ömer Faruk	Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, HATAY
Assist. Prof. Dr.	DALDA ŞEKERLİ, Akife	Erciyes University, Faculty of Seyrani Agriculture Faculty, KAYSERİ
Assist. Prof. Dr.	DERE, Sultan	Siirt University, Faculty of Agriculture, SİİRT
Assist. Prof. Dr.	DOĞAN DEMİR, Azize	Bingöl University, Faculty of Agriculture, BİNGÖL
Assist. Prof. Dr.	KAYAÇETİN, Fatma	Ankara University, Kalecik Vocational High School, ANKARA
Assist. Prof. Dr.	GÜVEN, Arzu	Malatya Turgut Özal University, Doğanşehir Vahap Küçük Vocational High School, MALATYA



Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



Assist. Prof. Dr.	ÖZTÜRK, Mustafa	Sakarya University, Faculty of Engineering, SAKARYA
Assist. Prof. Dr.	SAYGIN, Fikret	Sivas University of Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences and Technology, SİVAS
Assist. Prof. Dr.	TOKATLI, Mehmet	Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, TOKAT
Assist. Prof. Dr.	YILDIZ AKGÜL, Filiz	Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, AYDIN
Assist. Prof. Dr.	YURTERİ, Emine	Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Agriculture, RİZE
Dr.	BAĞDER ELMACI, Simel	Ankara University, Faculty of Engineering, ANKARA
Dr.	KARAMAN, Mehmet	Republic of Türkiye Ministry of Agriculture and Forestry Gap International Agricultural Research and Training Center
Dr.	NEGİŞ, Hamza	Selçuk University, Faculty of Agriculture, KONYA
Dr.	REFAEY, Mohamed S.	Sadat City University, Faculty of Pharmacy, EGYPT

Production Editors and Webmasters

Res. Assist. Dr.	KARAGEÇİLİ, Mehmet Reşit	Van Yuzuncu Yil University
Res. Assist.	RIŞVANLI, Mehmet Ramazan	Van Yuzuncu Yil University

Copyeditors

Res. Assist.	FİDAN, Enes	Van Yuzuncu Yil University
Res. Assist.	TEKİN, Onur	Van Yuzuncu Yil University
Instructor	YILDIZ, Muhsin	Van Yuzuncu Yil University
Doctoral	ŞELEM, Ezelhan	Van Yuzuncu Yil University

Layout Editors

Res. Assist.	BOYNO, Gökhan	Van Yuzuncu Yil University
Res. Assist.	TAYAM, Sezen	Van Yuzuncu Yil University

Correspondence Address

Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Zeve Campus, 65080, Van-TURKEY
(Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zeve Yerleşkesi, 65080, Van-TURKEY)

Phone
+90 (432) 225 10 56; 225 10 24

Fax
+90 (432) 225 11 04

e-mail
yyujagrsci@gmail.com

Web link: <https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>

Indexed by

Our Journal is abstracted and indexed in **CAB Abstracts**, **AGRIS**, **Google Scholar** and **TUBITAK/ULAKBIM National Data Bank**. Listed in **ISC**, **EBSCO**, **DOAJ (Directory of Open Access Journals)**, **Ulrich's Directory**, **Bielefeld Academic Search Engine (BASE)**, **ISI Thompson Master Journal List (ZOOLOGICAL RECORD)**, and **SCOPUS**.

Press and Date: Efe Kirtasiye, March 2022, Van

Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences is the continuation of the previously published **Yuzuncu Yil University, Agriculture Faculty Journal of Agriculture Sciences** and **Yuzuncu Yil University, Journal of Agriculture Faculty**.



CONTENTS

- Estimation of Genetic Parameters in F₃ Segregating Spring Wheat Populations for Yield and Yield Related Traits.....1
Fawad ALI , Muhammad Azhar NADEEM , Iftikhar Hussain KHALIL, Muzaffer BARUT, İlker YÜCE, Faheem Shehzad BALOCH
- First Report of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea) in *Barbus ercisianus* (Cypriniformes: Cyprinidae) from the Nemrut Crater Lake, Turkey.....11
Şükrü ÖNALAN, Ataman Altuğ ATICI, Ahmet SEPİL, Fazıl ŞEN
- Determination of the Effect of Different Organic Fertilizers Applications on Soil Quality Using the SMAF Model.....21
Pelin ALABOZ, Orhan DENGİZ, Sena PACCİ, Sinan DEMİR, Cengiz TÜRKAY
- Determination of Resistance of Some Potato Clones to *Alternaria solani*.....33
Özge KOYUTÜRK, İlker POLAT, Aslı YILMAZ, Başak ÖZYILMAZ, Rahime KARATAŞ, Levent YAZICI, Güngör YILMAZ, Yusuf YANAR, Nejdet KANDEMİR
- Storage of Yoghurt Powder Obtained by Different Drying Methods and Its Use in Reconstituted Ayran Production.....42
Özlem SOYSONA AR, Elvan OCAK
- Bioactive Properties of *Halymenia durvillei* Bory 1828 for Pharmaceutical Application: Antioxidant, Antidiabetic, Antiwrinkling and Skin-Whitening Activities.....57
Eldrin DLR. ARGUELLES
- Optimization of Media Composition for Maximum Growth of Probiotic *Lactobacillus fermentum* NBC-08 Using Response Surface Methodology.....69
Akif Emre KAVAK, Veyis SELEN, Faruk TAMTÜRK
- Phycocerythrin Accumulation of *Porphyridium cruentum* Culture at Indoor Tubular Photobioreactor.....81
Gökhun Çağatay ERBİL, Mahmut ELP, Yaşar DURMAZ
- The Effects of Atmospheric and Pressure Frying Processes on the Quality Characteristics of Meatballs.....89
Şeyma ŞİŞİK OĞRAŞ
- Essential Oil Chemical Composition of Lavender Varieties Cultivated in an Untraditional Agro-Ecological.....98
Rumyana GEORGIEVA, Hristofor KIRCHEV, Vanya DELIBALTOVA, Aleksandar MATEV, Petar CHAVDAROV, Tzvetanka RAYCHEVA
- Effects of Salinity on Yield, Yield Components and Water Productivity of Black Carrot (*Daucus Carota* L.) Under Water Stress Condition.....106
Mehmet ALTUN, Hakan ARSLAN
- Agricultural Residues in Turkey: Energy Potential and Evaluation of Existing Biomass Power Plants.....119
Ayşegül BAHADIROĞLU, Buse Nur ATAY, Sibel BAŞAKÇILARDAN KABAKCI
- Identification and Pathogenicity of *Neoscytalidium novaehollandiae*, the Agent of Canker and Dieback in Almonds and *In Vitro* Activities of Some Fungicides.....132
Nedim SAKÇI, Şener KURT Aysun UYSAL, E. Mine SOYLU, Merve KARA, Soner SOYLU
- The Effects of Different Tillage Techniques on the Production Costs in Fallow-Wheat Rotation System.....143
Derya SUREK, Celal CEVHER, Ufuk TURKER



- Interaction effect of Root Lesion Nematodes and *Fusarium culmorum* Sacc. on the disease complex on some wheat cultivars.....152
Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR, Bülent YAŞAR, Ş. Evrim ARICI, İ. Halil ELEKÇİOĞLU
- Genetic Variation, Heritability, Principal Component Analysis, Correlation and Path Coefficient Analysis in the Fruit Samples of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Genotypes.....164
Sanjay KUMAR, Asikho KISO, Lima ASENLA
- Effects of Different Growing Media on Growth Parameters of Zinnia (*Zinnia elegans*).....175
Aslıhan ESRİNGÜ, Melek EKİNCİ, Metin TURAN
- Using Biplot Analysis Technique to Selection in Triticale Breeding Studies.....186
Enver KENDAL
- Inhibitory Effect of Rosemary Essential Oil and Its Nanoemulsion on the Formation of Biogenic Amines by Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Bacteria.....199
Yılmaz UÇAR, Mustafa DURMUŞ, Esmeray KÜLEY, Koray KORKMAZ
- Harmful and Beneficial Insect Species and Their Distributions in Wheat Areas in Van Province.....213
Mehmet Salih ÖZGÖKÇE, Hilmi KARA, Furkan Harun BAŞI, Esra KINA



Research Article

Estimation of Genetic Parameters in F₃ Segregating Spring Wheat Populations for Yield and Yield Related Traits

Fawad ALI¹, Muhammad Azhar NADEEM², Iftikhar Hussain KHALIL³, Muzaffer BARUT⁴, İlker YÜCE⁵, Faheem Shehzad BALOCH^{*6}

^{1,3}The University of Agriculture, Department of Plant Breeding and Genetics, Peshawar, Pakistan

^{2,5,6}Faculty of Agricultural Sciences and Technologies, Sivas University of Science and Technology, 58140 Sivas, Turkey

⁴Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Çukurova University, Adana, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-5405-1175>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0637-9619>, ³<https://orcid.org/0000-0002-8072-5209>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-9095-8225>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-9761-3561>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-7470-0080>

*Corresponding author e-mail: balochfaheem13@gmail.com

Article Info

Received: 26.02.2021

Accepted: 17.11.2021

Online Published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.886006

Keywords

Diversity,
Grain yield,
Heritability

Abstract: The knowledge about genetic diversity of wheat genotypes is useful for the development of efficient cultivars adapted to diverse conditions. Various genetic parameters like broad-sense heritability, expected selection response, and correlation analysis were estimated among 12 F₃ spring wheat populations derived from eight parents. The 20 wheat genotypes exhibited highly significant differences ($P \leq 0.01$) for all the studied traits. BT4N-11 × Zam-2004 revealed maximum spikes plant⁻¹, while highest spikelets and grains spike⁻¹ were obtained for BTRF-1 × Zam-2004. BTRF-17 × Kohat-2010 and BT6N-5 × Kohat-2010 revealed maximum grain yield and harvest index plant⁻¹, while BTRF-3 × Zam-2004 and BT4N-11 × Kohat-2010 showed maximum 1000-grain weight and biological yield plant⁻¹ among 12 F₃ populations. Moderate to high heritability estimates were obtained for all the studied traits among the evaluated 12 F₃ populations. Principal component analysis revealed biological yield per plant (0.483), 1000-grain weight (0.586), and harvest index (0.601) as the major variability contributing traits. Correlation analysis for grain yield, biological yield, and 1000-grain weight exposed positive and significant associations among each other and also with other yield contributing traits. Hence, it is concluded that BT4N-11 × Zam-2004, BT4N-11 × Kohat-2010, BT6N-12 × Zam-2004 and BTRF-17 × Kohat-2010 exhibited high estimates of genetic parameters and multivariate analysis coupled with high mean performance for most of the yield traits among 12 F₃ populations and therefore, should be further used as F₄ populations for possible selection of desirable lines.

To Cite: Ali, F, Nadeem, M A, Khalil, I H, Barut, M, Yüce, İ, Baloch, F S, 2022. Estimation of Genetic Parameters in F₃ Segregating Spring Wheat Populations for Yield and Yield Related Traits. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.886006>

Yazlık Buğdayda Verim ve Verim ile İlgili Genetik Parametrelerin F₃ Açılan Populasyonlarında Tahmini

Makale Bilgileri

Geliş: 26.02.2021
Kabul: 17.11.2021
Online Yayınlanma: 15.03.2022
DOI: 10.29133/yyutbd.886006

Anahtar Kelimeler

Çeşitlilik,
Tane verimi,
Kalıtsallık

Öz: Çeşitli koşullara adapte olmuş verimli çeşitlerin geliştirilebilmesi için buğday genotiplerinin genetik çeşitliliği hakkında bilgiye sahip olunması yararlıdır. Sekiz ebeveynden elde edilen 12 adet F₃ yazlık buğday populasyonu arasında geniş anlamda kalıtım derecesi, beklenen seleksiyon yanıtı ve korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir. 20 adet buğday genotipi incelenen tüm özellikler için oldukça önemli farklılıklar göstermiştir ($P \leq 0.01$). BT4N-11 × Zam-2004 ile bitki başına en yüksek başak sayısı saptanırken, BTRF-1 × Zam-2004 ile bitki başına en yüksek başakçık sayısı ve bitki başına başakta en yüksek tane sayısı saptanmıştır. BTRF-17 × Kohat-2010 ile bitki başına en yüksek tane verimi ve hasat indeksi elde edilirken, 12 F₃ populasyonu arasında BTRF-3 × Zam-2004 ve BT4N-11 × Kohat-2010 ile en yüksek 1000 dane ağırlığı ve biyolojik verim elde edilmiştir. Değerlendirilen 12 F₃ populasyonu arasında incelenen tüm özellikler için orta ila yüksek kalıtsallık tahminleri elde edilmiştir. Temel bileşen analizi ile bitki başına biyolojik verim (0.483), 1000 tane ağırlığı (0.586) ve hasat endeksi (0.601) önemli varyasyon sağlayan özellikler olarak saptanmıştır. Korelasyon analizi tane verimi, biyolojik verim ve 1000 tane ağırlığı için birbirleri arasında ve ayrıca verime katkıda bulunan diğer özelliklerle pozitif ve anlamlı bir ilişki ortaya koymuştur. Sonuç olarak, BT4N-11 × Zam-2004, BT4N-11 × Kohat-2010, BT6N-12 × Zam-2004 ve BTRF-17 × Kohat-2010 ile üstün genetik parametreler sergilenmekle birlikte, 12 F₃ populasyonu arasındaki verim bileşenlerinin çoğunda iyi bir performansla sahip olduğu ve bu nedenle arzu edilen hatların seçimi için ileriki çalışmalarda ayrıca F₄ populasyonları olarak kullanılabilceği saptanmıştır.

1. Introduction

Wheat (*Triticum aestivum*) is one of the first domesticated food crops and is also known as the main source of calories and proteins in developing countries (Hossain and Teixeira da Silva, 2013). It is a widely adapted food crop around the world by providing more than half of its calories and nearly half of its protein to one-third of the world's population (Farshadfar et al., 2013). Wheat production is consistently changing under different environmental conditions, thus the adaptation of crops to changing global conditions is needed (Almeselmani et al., 2011). Wheat was cultivated in Pakistan on an area of 8972.5 thousand hectares with production and average yield of 26673.6 thousand tons and 2892 kg hectare⁻¹, respectively during 2016-17 (MNFSR, 2017).

One of the world's big concerns in the twenty-first century is the production of enough food for current and future generations while confronting climate change, and adverse environmental factors associated with biotic and abiotic stresses (Barut et al., 2021). In order to mitigate these problems, there is a need to identify the novel source of useful genetic variability. Genetic diversity can be an effective approach by providing a good source of variations (Nadeem et al., 2018; Ali et al., 2020a; Kocak et al., 2020; Balkan et al., 2021). Selection of parents and cross combinations having desirable traits is the first priority of plant breeders. The most common method of developing genetic diversity is hybridization among parental genotypes possessing traits of interest. So, the extent of variability among parents and its combinations is of huge importance in all wheat breeding programs. Estimation of genetic variance in the early generation of the various cross combinations is very fruitful to plant breeders (Ejaz-Ul-Hassan and Khaliq, 2008).

Various techniques are used to estimate the genetic basis of important plant traits and their transmission rate. Heritability is a key tool for the estimation of transmission rate from parents to offspring or from one generation to another generation. Heritability is simply the ratio of total genetic variance to the total phenotypic variance. Expected selection response has a direct relationship with heritability and can be estimated in different populations under various environmental conditions. Traits having high heritability will lead to a high expected selection response and finally genetic improvement of that desirable trait (Sial et al., 2013). The main possibilities of increasing wheat production in the last

couple of years are either due to better agronomic inputs or cultivars having the potential of higher yield. 50% increment in wheat yield is only because of the development of genetically improved cultivars by wheat breeders since the green revolution by Norman Borlaug in mid-1960's (Khalil and Afridi, 2004). Continuous wheat yield improvement programs are always important due to the consistently increasing demand for wheat. It is highly suggested to estimate phenotypic plant diversity of important morphological traits along with suitable multivariate analysis for better diversity estimation (Vollmann et al., 2005). Associations among important plant traits could be easily understood with the help of correlation analysis (Baloch et al., 2014).

This study aimed to estimate genetic parameters in 12 F₃ spring wheat populations for the identification of promising segregants which support the main objectives of the breeding program to genetically improve spring wheat in Pakistan.

2. Material and Methods

2.1. Experimental site and phenotypic evaluation

This study was conducted at Malakandher Research Farm (Lat. 34° 01' 10.37 N", Long. 71° 28' 01.69" E, Elevation 365.5m), the University of Agriculture, Peshawar-Pakistan during the wheat crop season 2016-17. Eight parents and their 12 F₃ populations were planted in randomized complete block design with three replications in the 2nd week of November 2016. Three rows of each genotype per replication were sown having a length of three meters. Plant to plant and row to row distance was maintained at 10 and 30 cm, respectively. Thus, total the plot area in each replication for each genotype was 2.7 m². Normal cultural practices and fertilizer doses of 120 kg nitrogen and 60 kg phosphorous ha⁻¹ as recommended for wheat were applied during the growing season. Half nitrogen and full phosphorous fertilizer dose were applied at sowing time, while the remaining nitrogen was applied at the booting stage.

Data were recorded on flag leaf area, plant height, spikes plant⁻¹, spike length, spikelets spike⁻¹, grains spike⁻¹, 1000-grain weight, biological yield, grain yield, and harvest index. Five plants from each parental genotype and 10 plants from each F₃ population were randomly selected for data recording in each replication to compute variances of parental lines and F₃ populations, and to calculate genetic parameters and multivariate analysis.

2.2. Statistical analysis

Singh and Chaudhary (1985) approach as outlined for RCB design were subjected to analysis of variance (ANOVA) for mean data of all parameters. ANOVA was constructed in statistical software SAS 9.3 version (Statistical Analysis Software/Stat Software, 2011). The sum of squares pertaining to genotypes was further partitioned into the sum of squares due to parents, F₃ populations, and parents vs. F₃ contrast. The least significant difference (LSD) test as outlined by Gomez and Gomez (1984) was used for the mean comparison of genotypes including parental genotypes as well as F₃ populations. LSD test was also constructed in statistical software SAS 9.3 version. Frequency distribution was performed using statistical software XLSTAT (Addinsoft, 2018) (www.xlstat.com). The modified formula of Mahmud and Kramer (1951) was used to estimate broad-sense heritability (h^2_{BS}) for yield contributing traits using variances of parental genotypes and F₃ populations. Principal component analysis and Pearson correlation coefficient were calculated through the XLSTAT statistical software (www.xlstat.com).

3. Results and Discussion

3.1. Genetic diversity and morpho-agronomic performance

Analysis of variance regarding genotypes, parents, F₃ populations, and parents vs. F₃ contrast is presented in Table 1. Analysis of variance revealed that genotypes and parents display highly significant differences for all the studied traits except spikes plant⁻¹ in parents. F₃ populations revealed highly significant differences for plant height, spike length, grains spike⁻¹, 1000-grain weight, grain yield plant⁻¹, and harvest index. Moreover, significant differences were obtained only for spikes plant⁻¹ in 12 F₃ populations. Similarly, parents vs. F₃ contrast exhibited highly significant and significant differences for

grains spikes⁻¹, grain yield plant⁻¹, harvest index, and biological yield plant⁻¹. Our current results are strongly supported by the findings of Azam et al. (2013) and Kumar et al. (2014) as they also reported significant differences among genotypes, parents, F₃ populations, and parents vs. F₃ contrast.

Table 1. Mean squares for various yield and related traits of 20 wheat genotypes (8 parents and 12 F₃ populations) were evaluated during 2016-17

Source	DF	FLA	PH	SPP	SL	SLPS	GPS	TGW	BYPP	GYPP	HI
Genotypes	19	48.03**	284.18**	4.85**	1.65**	1.90**	56.83**	43.19**	278.68**	48.18**	281.26**
Parents	7	85.23**	324.80**	4.39ns	1.95**	3.77**	51.78**	41.70**	384.75**	73.81**	119.38**
F₃ Pops.	11	27.47ns	280.99**	5.43*	1.50**	0.87ns	56.19**	45.26**	182.32ns	34.87**	386.09**
Parents vs. F₃	1	13.69ns	35.07ns	1.68ns	1.23ns	0.03ns	99.26**	30.93ns	596.84*	15.11**	261.27**
Error	38	14.29	25.83	2.31	0.37	0.73	2.2	9.68	109.7	0.49	0.56
CV (%)		9.4	4.73	13.72	4.78	3.84	2.02	8.35	16.89	3.04	1.78
R²		0.65	0.85	0.6	0.71	0.57	0.93	0.71	0.6	0.98	0.99

FLA: flag leaf area; PH: plant height; SPP: spikes per plant; SL: spike length; SLPS: spikelets per spike; GPS: grains per spikes; TGW: 1000-grain weight; BYPP: biological yield per plant; GYPP: grain yield per plant and HI: harvest index.

*, ** = Significant at 5 and 1% probability level, respectively.

ns = Non-significant.

Mean performances among eight parents and their 12 F₃ populations are presented in Table 2. The flag leaf area greatly contributes to grain yield, 1000-seed weight, and grain number in the wheat plant, thus a higher flag leaf area is always desirable.

Table 2. Means for various yield and related traits of 20 wheat genotypes (8 parents and 12 F₃ populations) were evaluated during 2016-17

Genotypes	FLA	PH	SPP	SL	SLPS	GPS	TGW	BYPP	GYPP	HI
I. Parents										
BT4N-11	42.4±3.3	95.8±5.5	12.9±0.8	11.7±0.5	23.5±0.6	81.5±3.8	34.3±2.8	81.2±7.6	29.0±3.0	36.8±3.7
BT6N-5	43.7±2.8	107.9±5.4	11.3±0.8	13.8±0.5	23.7±0.5	80.5±3.1	40.0±2.3	80.2±6.8	32.0±3.5	40.0±3.9
BT6N-12	47.6±2.6	113.5±4.3	10.9±0.8	12.0±0.4	20.5±0.5	71.5±2.9	41.6±2.8	73.3±6.9	23.0±3.4	31.8±3.9
BTRF-1	38.3±3.2	115.5±6.5	9.1±0.6	12.3±0.5	21.9±0.5	75.5±3.3	37.4±3.4	56.5±6.5	21.6±3.3	40.3±3.6
BTRF-3	42.4±1.1	114.4±4.3	10.5±0.7	12.0±0.5	21.9±0.3	74.2±3.4	37.6±3.3	62.7±5.5	23.5±3.6	40.0±3.7
BTRF-17	35.0±3.2	100.4±6.2	11.9±0.6	11.9±0.4	22.2±0.4	69.5±3.4	32.3±3.3	58.2±6.5	23.0±3.3	42.1±3.8
Zam-2004	45.1±2.1	116.1±4.1	12.6±0.5	13.6±0.3	23.2±0.3	72.9±2.8	37.2±2.7	64.8±5.3	23.1±2.9	35.9±2.9
Kohat-2010	31.8±2.5	88.7±4.4	10.9±0.5	12.5±0.3	21.2±0.3	73.9±2.7	30.6±2.6	50.2±5.4	15.4±2.8	38.0±3.3
Parents Mean	40.8	106.5	11.3	12.5	22.3	74.9	36.4	65.9	23.8	38.1
II. F₃ Populations										
BT4N-11 × Zam-2004	39.6±3.9	101.6±9.6	13.0±1.1	12.5±0.5	22.8±0.6	71.8±4.1	31.4±3.4	53.9±9.4	18.9±3.8	35.2±4.3
BT4N-11 × Kohat-2010	38.9±3.4	104.8±10.2	12.7±1.4	13.8±0.7	22.8±0.6	78.5±4.3	33.6±3.4	77.3±9.5	19.9±4.3	25.8±3.7
BT6N-5 × Zam-2004	40.1±4.0	104.3±9.8	10.3±1.6	13.2±0.8	22.8±0.8	69.5±4.5	38.6±3.5	61.9±9.9	22.7±4.2	37.4±3.9
BT6N-5 × Kohat-2010	33.4±4.3	98.4±9.8	11.0±1.1	12.8±0.7	22.3±0.9	67.1±3.9	40.9±3.9	51.2±9.6	24.5±4.6	48.6±4.7
BT6N-12 × Zam-2004	38.9±4.4	101.4±9.2	12.3±1.2	13.6±0.6	22.5±0.7	77.5±3.7	37.5±3.0	63.9±8.8	27.0±3.8	42.4±4.5
BT6N-12 × Kohat-2010	41.8±4.1	100.9±8.8	10.1±0.9	13.2±0.6	21.8±0.5	73.6±4.6	32.4±3.5	51.7±7.6	17.4±3.4	33.9±4.9
BTRF-1 × Zam-2004	45.1±3.5	130.5±7.9	11.3±0.7	12.9±0.8	22.9±0.6	79.7±4.0	41.3±2.0	66.6±9.3	26.8±4.3	40.3±4.3
BTRF-1 × Kohat-2010	40.5±3.4	102.3±10.3	8.9±0.9	12.3±0.5	22.0±0.7	72.2±4.1	36.0±3.4	51.8±9.5	19.6±4.7	39.6±3.7
BTRF-3 × Zam-2004	38.7±3.7	117.9±10.7	9.2±1.2	12.0±0.4	22.7±0.7	69.0±4.6	43.9±3.8	55.7±9.8	23.0±3.7	42.0±3.5
BTRF-3 × Kohat-2010	42.0±4.3	104.1±9.8	9.6±1.3	12.4±0.6	22.3±0.8	72.0±4.5	37.2±3.9	56.2±8.9	21.9±3.9	39.1±4.6
BTRF-17 × Zam-2004	36.3±4.1	117.9±9.4	11.2±1.1	11.3±0.6	21.3±0.8	66.4±3.8	40.5±4.0	58.4±10.0	23.7±4.6	40.6±4.1
BTRF-17 × Kohat-2010	42.4±4.0	113.2±7.4	11.7±0.9	13.3±0.7	21.5±0.6	70.5±4.5	40.7±3.4	64.9±8.4	28.0±4.3	43.4±4.0
F₃ Mean	39.8	108.1	10.9	12.8	22.3	72.3	37.8	59.5	22.8	39.0
LSD (5%)	6.2	8.4	2.5	1.0	1.4	2.5	5.1	17.3	1.0	1.0

The current study reported a higher mean flag leaf area (39.8 cm²) for the studied 12 F₃ wheat populations compared to Khan et al. (2003) (26.5 cm²) and Azam et al. (2013) (18.3 cm²). Khan et al. (2003) tested six parents and their six F₂ populations, while Azam et al. (2013) evaluated five parents and their 14 F₃ populations. Semi-dwarf wheat cultivars are preferred due to various reasons like lodging and yield losses. Tall wheat cultivars reduced harvestable yield up to 80% due to lodging. The current study revealed semi-dwarf wheat populations with a mean plant height of 108.1 cm and supported the

results of the previous studies of Khan et al. (2003) and Azam et al. (2013) as they reported mean plant height of 110.42 and 112 cm while evaluating wheat populations respectively.

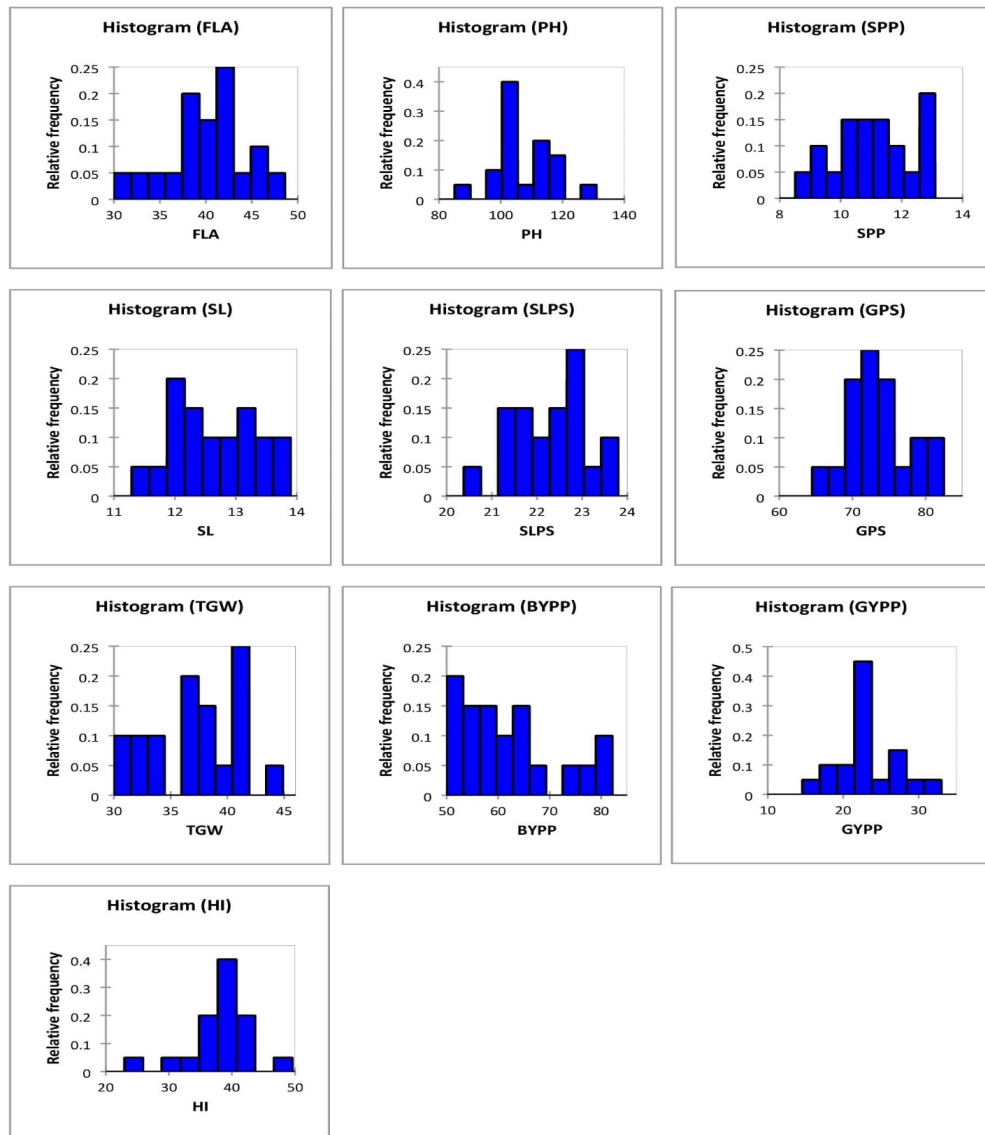


Figure 1. Frequency distribution of the studied traits among 8 parents and 12 F₃ wheat populations

Our current study supported the findings of Khan et al. (2003) by revealing the number of spikes plant⁻¹ in the same range. Ahmad et al. (2007) reported a lower mean spike length (10.73 cm) in the developed five wheat crosses compared to our findings (12.8 cm). The developed F₃ populations reported a higher mean number of spikelets spike⁻¹ (22.3), grains spike⁻¹ (72.3), and grain yield plant⁻¹ (22.8 g) compared to wheat F₃ populations developed by Memon et al. (2007) as they obtained mean spikelets spike⁻¹, grains spike⁻¹, and grain yield plant⁻¹ of 18.64, 57.33, and 13.03 (g) respectively. The studied F₃ populations exhibited a higher mean harvest index (39 %) compared to the mean harvest index of F₃ populations developed by Azam et al. (2013) (30.9%). Most of the studied traits exhibited promising performance compared to various wheat populations developed previously. It clearly suggested that the investigated F₃ populations comprise good cross combinations that must be further explored. Frequency distribution was also performed to better understand the behavior of the recorded data. Frequency distribution with the help of histogram exhibited normal distribution for the studied 10 traits among 8 parents and 12 F₃ populations (Figure 1).

3.2. Heritability and expected selection response of wheat derived 12 F₃ populations

Heritability and expected selection response estimation among 12 F₃ spring wheat populations are presented in Table 3. Heritability and expected selection response ranged from 0.52 (BT4N-11 × Zam-2004) to 0.78 (BTRF-1 × Kohat-2010 and BTRF-3 × Kohat-2010) and 5.29 cm² (BT4N-11 × Zam-2004) to 16.08 cm² (BTRF-1 × Kohat-2010) for flag leaf area among F₃ populations. Khan et al. (2003) tested six F₂ wheat cross combinations along with their six parents to estimate heritability and selection response for yield associated parameters in wheat. They observed high heritability (0.85) for flag leaf area in wheat cross WLRG-3 × 5039. Heritability and expected selection response among F₃ populations for plant height ranged from 0.56 (BTRF-1 × Kohat-2010) to 0.89 (BTRF-17 × Zam-2004) and 6.69 cm (BTRF-1 × Kohat-2010) to 17.61 cm (BTRF-17 × Zam-2004). Our findings are supported by the work of Ahmad et al. (2007) who also obtained high heritability of 0.89 in wheat cross WL60 × LU26S. Similarly, Memon et al. (2007) examined seven F₃ populations along with eight parents for yield contributing traits in wheat. They reported low heritability (0.56) and high heritability (0.92) for F₃ progeny RWM-9313 × Kiran 95 and Khirman × RWM-9313, which further confirm our findings. Moreover, Khan et al. (2003) also obtained high heritability (0.89) for plant height in cross WLRG-3 × LU-26S that is in accordance with our results. Heritability and expected selection response ranged from 0.32 (BTRF-3 × Zam-2004) to 0.70 (BT4N-11 × Zam-2004) and 1.50 spikes (BTRF-3 × Zam-4) to 4.72 spikes (BT4N-11 × Zam-2004) among 12 F₃ populations for spikes plant⁻¹. Magda and Abd El-Rahman (2013) studied three wheat crosses obtained as a result of five wheat parents crossing for yield and its contributing traits. They obtained high heritability (0.83) for spikes plant⁻¹ in wheat crosses, which confirms our findings. F₃ populations BT4N-11 × Kohat-2010, BT4N-5 × Zam-2004 and BTRF-3 × Kohat-2010 revealed maximum heritability (0.78) each, while BT6N-12 × Zam-2004 manifested minimum heritability (0.57) for spike length. Expected selection response ranged from 0.95 cm (BTRF-3 × Zam-2004) to 1.86 cm (BT6N-5 × Zam-2004). Memon et al. (2007) reported low heritability (0.58) for F₃ wheat progeny Marvi-2000 × Soghat-90, while high heritability (0.64) for Marvi-2000 × Khirman, which are in accordance with our finding. Furthermore, Ahmad et al. (2007) estimated high heritability (0.76) for wheat cross WL59 × LU26S. Heritability and expected selection response for spikelets spike⁻¹ among 12 F₃ populations ranged from 0.45 (BT6N-5 × Kohat-2010) to 0.71 (BT4N-11 × Zam-2004) and 1.22 spikelets (BT6N-5 × Kohat-2010) to 2.69 spikelets (BT4N-11 × Zam-2004) (Table 3). Memon et al. (2007) evaluated seven cross combinations of F₃ generation along with its eight parents to predict heritability and selection response for these cross combinations. They obtained low heritability (0.46) for spikelets spike⁻¹ in F₃ progeny of Marvi-2000 × Soghat-90. Heritability and expected selection response for grains spike⁻¹ among 12 F₃ populations ranged from 0.58 (BTRF-17 × Zam-40) to 0.84 (BTRF-1 × Kohat-2010) and 10.82 grains spike⁻¹ (BTRF-17 × Zam-2004) to 22.05 grains spike⁻¹ (BTRF-3 × Kohat-2010). Memon et al. (2007) evaluated eight parents and their seven F₃ populations for yield contributing traits in wheat to estimate heritability. They reported moderate to high heritability (0.57 to 0.63) for the F₃ wheat population Soghat-90 × Sarsabz and SD-1200/14 × IB 25/99. Moreover, Ahmad et al. (2007) estimated moderate heritability (0.60) for grains spike⁻¹ in wheat cross WL59 × LU26S. Heritability and selection response for 1000-grain weight ranged from 0.30 (BT6N-5 × Kohat-2010) to 0.75 (BT6N-12 × Kohat-2010) and 0.24 g (BTRF-1 × Kohat-2010) to 0.96 g (BT6N-12 × Kohat-2010), respectively. Our results are supported by the work of Ahmad et al. (2007) who reported high heritability (0.75) for cross WL60 × LU26S. Heritability and expected selection response magnitude ranged from 0.54 (BT6N-12 × Zam-2004) to 0.72 (BTRF-17 × Kohat-2010) and 15.60 g (BT6N-12 × Zam-2004) to 27.50 g (BTRF-17 × Kohat-2010) for biological yield plant⁻¹. The extent of heritability and selection response for grain yield plant⁻¹ ranged from 0.39 (BT6N-12 × Kohat-2010) to 0.81 (BT6N-12 × Zam-2004) and 4.65 g (BT6N-12 × Kohat-2010) to 16.84 g (BT6N-12 × Zam-2004). Ahmad et al. (2007) reported high heritability (0.87) for grain yield in wheat cross WL59 × LU26S which confirms our findings. Heritability and expected selection response for harvest index ranged from 0.36 (BTRF-1 × Zam-2004) to 0.96 (BTRF-17 × Kohat-2010) and 7.72 % (BTRF-1 × Zam-2004) to 128.59% (BTRF-17 × Kohat-2010). The explored wheat populations revealed a sufficient amount of broad-sense heritability and expected selection response for the studied traits.

Table 3. Heritability estimates (h^2) and expected selection response (R_e) for yield and yield related traits of 12 F₃ populations derived from eight parents of wheat

Traits	PH (cm)		FLA (cm ²)		SPP (no)		SL (cm)		SLPS (no)		GPS (no)		TGW (g)		BYPP (g)		GYPP (g)		HI (%)	
	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e
F₃ populations	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e	h^2	R_e
BT4N-11 × Zam-2004	0.86	14.66	0.52	5.29	0.70	4.72	0.76	1.55	0.71	2.69	0.69	14.86	0.69	0.61	0.61	19.36	0.62	8.91	0.74	15.94
BT4N-11 × Kohat-2010	0.67	7.18	0.64	7.79	0.61	3.61	0.78	1.74	0.48	1.37	0.80	20.85	0.63	0.49	0.63	21.57	0.68	11.07	0.78	18.79
BT6N-5 × Zam-2004	0.76	9.84	0.61	8.30	0.34	1.82	0.78	1.86	0.57	1.75	0.81	21.38	0.50	0.58	0.59	17.91	0.72	11.98	0.82	31.32
BT6N-5 × Kohat-2010	0.69	7.55	0.74	12.48	0.53	3.39	0.71	1.56	0.45	1.22	0.77	18.45	0.30	0.29	0.68	24.45	0.68	11.03	0.79	30.49
BT6N-12 × Zam-2004	0.87	15.35	0.64	8.73	0.39	2.01	0.57	1.00	0.65	2.03	0.77	17.65	0.40	0.34	0.54	15.60	0.81	16.84	0.93	41.19
BT6N-12 × Kohat-2010	0.77	9.73	0.72	11.58	0.57	3.55	0.72	1.62	0.54	1.43	0.80	18.94	0.75	0.96	0.58	18.81	0.39	4.65	0.83	24.73
BTRF-1 × Zam-2004	0.79	13.93	0.69	11.79	0.61	3.69	0.71	1.28	0.58	1.53	0.69	11.91	0.39	0.33	0.61	18.85	0.65	9.86	0.36	7.72
BTRF-1 × Kohat-2010	0.56	6.69	0.78	16.08	0.53	3.00	0.70	1.28	0.52	1.27	0.84	19.77	0.30	0.24	0.69	25.61	0.64	9.85	0.64	19.09
BTRF-3 × Zam-2004	0.77	9.89	0.61	8.51	0.32	1.50	0.59	0.95	0.55	1.36	0.68	13.57	0.35	0.32	0.61	19.07	0.54	8.03	0.57	14.28
BTRF-3 × Kohat-2010	0.68	7.33	0.78	14.57	0.55	3.15	0.78	1.76	0.69	2.02	0.82	22.05	0.32	0.29	0.65	22.92	0.51	7.77	0.42	9.22
BTRF-17 × Zam-2004	0.89	17.61	0.56	7.24	0.34	1.95	0.61	1.11	0.48	1.25	0.58	10.82	0.57	0.67	0.66	21.36	0.64	9.01	0.45	17.05
BTRF-17 × Kohat-2010	0.64	6.79	0.75	13.35	0.53	3.65	0.70	1.50	0.62	1.86	0.79	20.08	0.34	0.32	0.72	27.50	0.60	8.49	0.96	128.59

3.3. Correlation and principal component analysis

Correlation analysis is mainly applied to understand relatedness among various traits and evaluated information can be best used for crop improvement by an indirect selection of the components affecting crop yield (Ali et al., 2020b). Crop improvement depends upon the success of the selection criteria. The importance of the traits can be judged from their direct or indirect effects upon yield components, especially seed yield. It is therefore very important to know about the relative effects of the traits influencing the economically important traits in a desirable direction and to be selected in the crop improvement programs (Vrijendra et al., 2004). Correlation coefficients among the traits are presented in Table 4. Biological yield per plant revealed a positive and significant correlation with flag leaf area (0.563), seeds per spike (0.506), grains per spike (0.650), and grain yield per plant (0.657). Plant height exposed a positive and significant correlation with flag leaf area (0.521) and 1000-grain weight (0.690). Spikelets per spike exhibited a positive and significant correlation with grains per spike (0.504), while 1000-grain weight showed a positive and significant correlation with grain yield per plant (0.571). Present results confirmed the previous findings of Dutamo et al. (2015); Ahmad et al. (2016); Ali et al. (2017) and Adnan et al. (2017).

Principal component analysis (PCA) helps to recognize important plant traits that are used to characterize the variations among experimental materials (Chakravorty et al., 2013). Principal component analysis precisely classified 10 morphological traits into 10 principal components among which the first three principal components; PC1, PC2, and PC3 were selected along with their Eigenvalues. These three components explained nearly 72.911% of the total genetic variation (Table 5). The first principal component (PC1) contributed about 34.345% of the variation, showing the highest contributions from biological yield per plant (0.483) followed by grains per spike (0.398) and grains per plant (0.382). PC2 explained 24.505% of the variation with the highest contributions from 1000-grain weight (0.586) followed by Plant height (0.463) and harvest index (0.371). PC3 revealed 14.061% variation having the highest contributions from harvest index (0.601) followed by spikelets per spike (0.385) and grain yield per plant (0.363).

Table 4. Correlation analysis for various yield and related traits of 20 wheat genotypes (8 parents and 12 F₃ populations)

Variables	FLA	PH	SPP	SL	SLPS	GPS	TGW	BYPP	GYPP
FLA									
PH	0.521								
SPP	0.065	-0.162							
SL	0.207	-0.049	0.276						
SLPS	0.173	-0.003	0.352	0.410					
GPS	0.387	-0.009	0.314	0.368	0.504				
TGW	0.334	0.690	-0.311	-0.036	-0.036	-0.217			
BYPP	0.563	0.190	0.506	0.253	0.405	0.650	0.186		
GYPP	0.390	0.333	0.284	0.152	0.443	0.344	0.571	0.657	
HI	-0.360	0.066	-0.265	-0.194	-0.009	-0.347	0.417	-0.399	0.393

FLA: flag leaf area; PH: plant height; SPP: seeds per spike; SL: pike length; SLPS: spikelets per spike; GPS: grains per spike; TGW: 1000-grain weight; BYPP: biological yield per plant; GYPP: grain yield per plant; HI: harvest index. Values in bold are different from 0 with a significance level alpha=0.05.

The results suggested that traits, biological yield per plant, grain yield per plant, grains per spike, 1000-grain weight, plant height, harvest index, and spikelets per spike were responsible for the genetic variation in the spring wheat genotypes. It is interpreted from the above that the traits that contributed variation in each component may contain the same genes that should be useful during selection to identify the most diverse segregants. These morphological traits having the highest variation contribution should be employed as desirable tools when screening elite populations during field studies. It is concluded that principal component analysis is very helpful to attain more accurately aware of the relationship between traits that had the highest impact on seed yield per plant and to predict the best selection indices for the yield improvement in various segregating populations. Spring wheat populations revealing best mean performance and exposed higher genetic and multivariate parameters could be effectively suggested for selection and further evaluation at later generations. The selected spring wheat populations can be used as an important source of superior cultivar development.

Table 5. PCA analysis for various yield and related traits of 20 wheat genotypes (8 parents and 12 F₃ populations)

Trait	PC1	PC2	PC3
FLA	0.366	0.168	-0.448
PH	0.173	0.463	-0.308
SPP	0.275	-0.298	0.206
SL	0.261	-0.175	0.117
SLPS	0.341	-0.113	0.385
GPS	0.398	-0.225	-0.018
TGW	0.12	0.586	0.005
BYPP	0.483	-0.03	-0.082
GYPP	0.382	0.304	0.363
HI	-0.155	0.371	0.601
Eigenvalue	3.435	2.45	1.406
Variability (%)	34.345	24.505	14.061
Cumulative %	34.345	58.85	72.911

FLA: flag leaf area; PH: plant height; SPP: seeds per spike; SL: spike length; SLPS: spikelets per spike; GPS: grains per spike; TGW: 1000-grain weight; BYPP: biological yield per plant; GYPP: grain yield per plant; HI: harvest index.

4. Conclusion

Analysis of variance exhibited highly significant differences ($P \leq 0.01$) for all the studied traits among 20 wheat genotypes. Principal component analysis revealed biological yield per plant (0.483), grain yield per plant (0.382), grains per spike (0.398), 1000-grain weight (0.586), plant height (0.463),

harvest index (0.601), spikelets per spike (0.385), and grain yield per plant (0.363) as the major variability contributing traits. Correlation analysis for grain yield, biological yield, and 1000-grain yield exposed positive and significant associations among each other and with other yield contributing traits. On the basis of mean performance and genetic and multivariate parameters, F₃ populations BT4N-11 × Zam-2004, BT4N-11 × Kohat-2010, BT6N-12 × Zam-2004 and BTRF-17 × Kohat-2010 were found outstanding and hence might be suggested for further evaluation. Moreover, the parental lines involved in these crosses should be tested in later generations to achieve promising segregants across locations.

References

- Adnan, M., Muhammad, F., Hussain, Q., Hussain, I., & Ali, F. (2017). Heritability estimates and correlation analysis in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under normal and late plantings. *Pure and Applied Biology*, 6, 1151-1160.
- Ahmad, I., Mahmood, N., Khaliq, I., Khan, N., & Secretariat, E. F. (2016). Genetic analysis for five important morphological attributes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 26, 725-730.
- Ahmad, N., Chowdhry, M. A., Khaliq, I., & Maekawa, M. (2007). The inheritance of yield and yield components of five wheat hybrid populations under drought conditions. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 8, 53-59.
- Ali, F., Ahmad, S., Ali, J., Tunio, M. A., Afridi, M. S., & Iqbal, T. (2017). Heritability estimates and traits association in wheat advanced lines. *International Multidisciplinary Research Journal*, 27, 13-17.
- Ali, F., Nadeem, M. A., Barut, M., Habyarimana, E., Chaudhary, H. J., Khalil, I. H., ... & Baloch, F. S. (2020a). Genetic diversity, population structure and marker-trait association for 100-seed weight in international safflower panel using silicoDARt marker information. *Plants*, 9, 652.
- Ali, F., Yilmaz, A., Chaudhary, H.J., Nadeem, M. A., Rabbani, M. A., Arslan, Y., Nawaz, M. A., Habyarimana, E., & Baloch, F. S. (2020b). Investigation of Morpho-Agronomic Performance and Selection Indices in the International Safflower Panel for Breeding Perspectives. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43. doi: 10.3906/tar-1902-49.
- Almeselmani, M., Teixeira da Silva, J.A., & Deshmukh, P. (2011). Stability of different physiological characters, yield and yield components under high temperature stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5, 86-92.
- Azam, M. S., Mohammad, F., Ahmad, I., Khalil, I. H., Jadoon, S. A., & Nasim, A. (2013). Divergence in F₃ segregating bread wheat populations. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 13, 94-99.
- Balkan, A., Bilgin, O., & Başer, İ. (2021). Improvement of Grain Quality Traits in Bread Wheat Genotypes Through Mutation Breeding Using Gamma Irradiation. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31, 973-981. doi: 10.29133/yyutbd.899862
- Baloch, F. S., Karaköy, T., Demirbaş, A., Toklu, F., Özkan H., & Hatipoğlu, R. (2014). Variation of some seed mineral contents in open pollinated faba bean (*Vicia faba* L.) landraces from turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38, 591-602.
- Barut, M., Tansi, L. S., Akyuz, A. M., & Karaman, S. (2021). Quality and yield of different basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars with various planting and cutting times under hot Mediterranean climate. *Applied Ecology and Environmental Research*, 19, 3115-3136.
- Chakravorty, A., Ghosh P. & Sahu, P. (2013). Multivariate analysis of phenotypic diversity of landraces of rice of west bengal. *American Journal of Experimental Agriculture*, 3, 110-123.
- Dutamo, D., Alamerew, S. S., Eticha, F., & Assefa, E. (2015). Genetic variability in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm for yield and yield component traits. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5, 39-46.
- Ejaz-Ul-Hassan, S., & Khaliq, I. (2008). Quantitative inheritance of some physiological traits for spring wheat under two different population densities. *Pakistan Journal of Botany*, 40, 581-587.
- Farshadfar, E., Poursiahbidi, M. M., & Safavi, S. M. (2013). Assessment of drought tolerance in land races of bread wheat based on resistance/ tolerance indices. *International Journal of Advances in Biological and Biomedical Research*, 1, 143-158.

- Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research*. 2nd Edition. New York, USA: John Wiley & Sons.
- Hossain, A., & Teixeira da Silva, J. A. (2013). Wheat production in Bangladesh: its future in the light of global warming. *Annals of Botany – Plants*, 5, pls042. <https://doi: 10.1093/aobpla/pls042>.
- Khalil, H. I., & Afridi, N. (2004). Heritability and selection responses for yield and yield associated traits in spring wheat. *Sarhad journal of agriculture*, 20, 401-404.
- Khan, A. S., Saleem, I. & Ali, Z. (2003). Heritability of various morphological traits in wheat. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5, 138-140.
- Kumar, N., Markar, S., & Kumar, V. (2014). Studies on heritability and genetic advance estimates in timely sown bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Bioscience Discovery*, 5, 64-69.
- Kocak, M., Karatas, M. D., Sevket, A., Baloch, F., & Yildiz, M. (2020). Van Gölü havzasından toplanan Terslale (*Fritillaria imperialis* L.) genotiplerinde genetik farklılığın iPBS retrotranspozon markırları ile belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30, 398-406.
- Magda, E., & El-Rahman, A. (2013). Estimation of some genetic parameters through generation mean analysis in three bread wheat crosses. *Alexandria journal of agricultural research*, 58, 183-195.
- Mahmud, I., & Kramer, H. H. (1951). Segregation of yield, height and maturity following soyabean crosses. *Agronomy Journal*, 43, 605–606.
- Memon, S., Qureshi, M., Ansari, B. A., & Sial, M.A. (2007). Genetic heritability for grain yield and its related characters in spring wheat (*Triticum Aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 39, 1503-1509.
- MNFSR. (2017). Ministry of national food security and research, Government of Pakistan Islamabad. <http://www.mnfsr.gov.pk/frmDetails.aspx>. Access date: April 10.
- Nadeem, M. A., Habyarimana, E., Çiftçi, V., Nawaz, M. A., Karaköy, T., Comertpay, G., Shahid, M. Q., Hatipoğlu, R., Yeken, M. Z., Ali, F., & Ercişli, S. (2018). Characterization of genetic diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDART marker information. *PloS one*, 13, p.e0205363.
- Sial, A. M., Akhter, J., Mirbahar, A. A., Jamali, K. D., Ahmad, N., & Bux, H. (2013). Genetic studies of some yield contributing traits of F₂ segregating generation of bread wheat. *Pakistan Journal of Botany*, 45, 1841-1846.
- Singh, R. K., & Chaudhary, B. D. (1985). *Biometrical methods in quantitative genetic analysis*. New Delhi, India: Kalyani Publishers.
- Statistical Analysis Software/Stat Software, Version 9.3. (2011). 2nd ed.; SAS Institute: Cary, NC, USA.
- Vollmann, J., Grausgruber, H., Stift, G., Dryzhyruk, V., & Lelley, T. (2005). Genetic diversity in *Camelina* germplasm as revealed by seed quality characteristics and RAPD polymorphism. *Plant Breeding*, 124, 446-453.
- Vrijendra, S., Deshpande, M. B., Choudhari, S. V., & Nimbkar, N. (2004). Correlation and path coefficient analysis in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Sesame and Safflower Newsletter*, (19).



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

First Report of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea) in *Barbus ercisianus* (Cypriniformes: Cyprinidae) from the Nemrut Crater Lake, Turkey

Şükrü ÖNALAN¹, Ataman Altuğ ATICI^{*2}, Ahmet SEPİL³, Fazıl ŞEN⁴

¹Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Fisheries, Department of Fish Diseases, 65080, Van, Turkey

^{2,3,4}Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Fisheries, Department of Fisheries Basic Sciences, 65080, Van, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-0058-5232>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8700-8969>, ³<https://orcid.org/0000-0002-3201-5181>,

⁴<https://orcid.org/0000-0003-4242-3813>

*Corresponding author e-mail: atamanaltug@yyu.edu.tr

Article Info

Received: 07.10.2021

Accepted: 24.12.2021

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1005928

Keywords

Cestodes,
Fish diseases,
Fish parasites,
Real-Time PCR

Abstract: Van Basin has a rich geographical structure in terms of water resources and endemic fish species. In this study, *Ligula intestinalis* parasite, which is the host of *Barbus ercisianus* living in Nemrut Crater Lake, was recorded for the first time. The parasite was described molecularly as well as morphologically. In this context, a primer set was designed for molecular identification for the 28S rRNA gene region of *L. intestinalis*. Real-Time PCR results with the designed primers gave positive results in all parasite samples. The results were confirmed by a single peak (87) in the HRM analysis.

To Cite: Önalın, Ş, Atıcı, A A, Sepil, A, Şen, F, 2022. First Report of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea) in *Barbus ercisianus* (Cypriniformes: Cyprinidae) from the Nemrut Crater Lake, Turkey. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 11-20. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1005928>

Nemrut Krater (Turkey) Gölü'nde Yaşayan *Barbus ercisianus* (Cypriniformes: Cyprinidae) Balık Türünde *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea)'in İlk Bildirimi

Makale Bilgileri

Geliş: 07.10.2021

Kabul: 24.12.2021

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1005928

Anahtar Kelimeler

Sestodlar,
Balık hastalıkları,
Balık parazitleri,
Real-Time PCR

Öz: Van Gölü Havzası su kaynakları ve endemik balık türleri açısından zengin bir coğrafi yapıya sahiptir. Bu çalışmada Nemrut Krater Gölü'nde yaşayan *Barbus ercisianus*'ta konakçı olan *Ligula intestinalis* parazitinin ilk kez kaydı verilmiştir. Parazit, morfolojik tanımlamanın yanı sıra moleküler olarak da tanımlanmıştır. Bu bağlamda, moleküler tanımlama için, *L. intestinalis*'in 28S rRNA gen bölgesini hedef alan bir primer seti tasarlanmıştır. Tasarlanan primerler ile gerçekleştirilen Real-Time PCR sonuçları tüm parazit örneklerinde pozitif sonuç vermiştir. Elde edilen sonuçlar, HRM analizinde tek bir pik (87) ile doğrulanmıştır.

1. Introduction

Fisheries is an important sector with a high-income revenue because it is a good source of food, provides significant employment, and has a vital export product status. Due to its climatic and geographical structure, Turkey has the appropriate facilities for the cultivation of many aquaculture products in seas and freshwaters (Önalın, 2016). Since fish are grown in closed areas such as ponds and cages, and fish stock density is higher than it should be, fish diseases are an essential problem in aquaculture. This leads to unsuitable aquaculture conditions and, consequently, increased susceptibility to infections (Sakai, 1999). The Van Lake Basin, a closed basin, is rich in both plant and animal species (Şekercioğlu et al., 2011; Elp et al., 2016; Adızel et al., 2017; Demirkuş et al., 2018; Toyran et al., 2018). Also, there are many ponds and streams in the basin such as natural lakes of Van, Erçek, Nazik, Nemrut, Aygır, Arın and the dam lakes of Sarımehmet, Koçköprü, Zenek, Morgedik (Cetinkaya, 1993). All of the naturally distributed fish species in these water resources, such as *Barbus ercisianus*, *Alburnus tarichi*, *Alburnus timarensis*, *Capoeta kosswigi*, and *Oxynoemacheilus ercisianus*, are endemic (Karaman, 1971).

B. ercisianus is taxonomically one of the members of the Cyprinidae family and was reported as Data Deficient (DD) in the IUCN red list category (Elp et al., 2016). *B. ercisianus* shows the distribution in the Zilan and Deliçay river basins and Nemrut Crater Lake (Şen et al., 2018). Its body is generally long and covered with cycloid scales. The mouth is ventrally positioned, and there are two double whiskers around it. There is no distinct carina on the back, while there are dark spots on fins and throughout its body. *B. ercisianus* usually inhabits fast-flowing, pebbly and sandy streams and feeds on species such as *Daphnia*, *Gammarus*, and *Diaptamus* (Geldiay and Suleyman, 2009). Temporary white spots on the body surface of males in the reproduction period are called tubercles.

L. intestinalis Linnaeus, 1758 (Cestoda: Pseudophyllidea) is a tapeworm species with a three-host life cycle in freshwater habitats. After completing the larval development in two intermediate hosts, they mature primarily in the intestine of bird species (Stefka et al., 2007).

In this study, the identification of *L. intestinalis* infestation in the *B. ercisianus* species from the Nemrut Crater Lake was carried out for the first time.

2. Material and Methods

2.1. Study area

The study was conducted between September 2018 and February 2019. SAMUS 725 MS brand electroshock device was used to sample fish in the Nemrut Crater Lake (Figure 1). In this study, 11 fish were sampled. Infestation was observed in 6 of the fishes. It was observed that infestation at the sampled fish level could have a prevalence of more than 50%. The lake is located in the east of Turkey, west of the Van Lake, 13 km from Tatvan district center and 25 km from Ahlat district of Bitlis province. The lake is the largest volcanic lake in Turkey and the second largest in the world. The maximum depth of lake has been determined as 176 m and is located at an altitude of 2247 m. The lake has a surface area of 12.52 km² and a total water volume of 1.25 km³ (Kuluöztürk and Doğru, 2015; Kurttaş and Tezcan, 2018). Fishes taken from the sampling area were brought to the Van Yüzüncü Yıl University, Fisheries Faculty, Aquarium Unit on the same day and kept in an aquarium at 13 °C water temperature until the parasite identification was carried out. Morphological and molecular studies of parasites in fish samples were carried out at Van Yüzüncü Yıl University, Fisheries Faculty, Department of Fish Diseases.

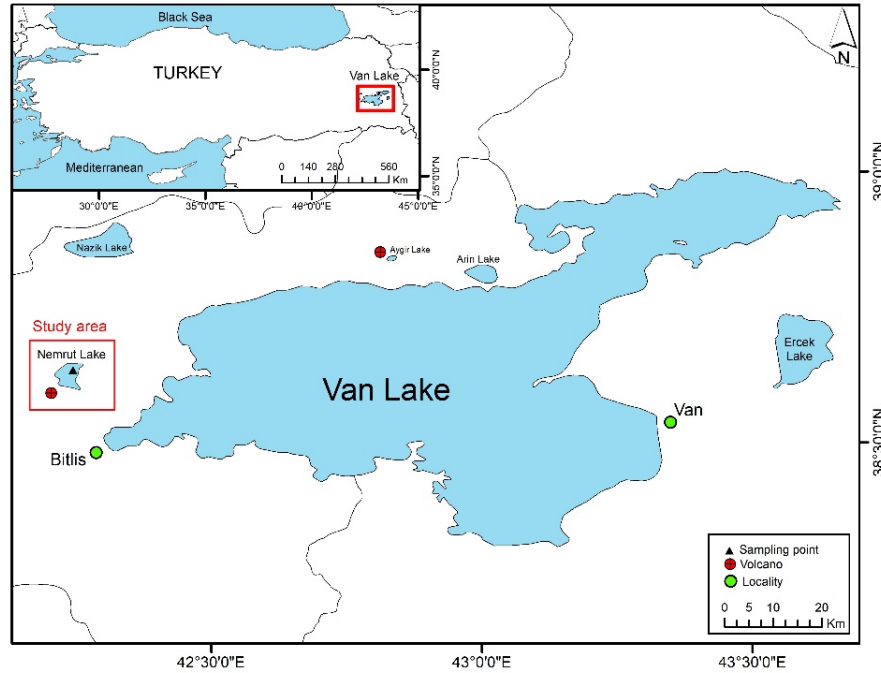


Figure 1. Map of the study area in Van Lake Basin.

2.2. Determination of the Duration of the Parasite to Leave the Host

Following the death of the infected fish, the duration of the parasite to leave the host was determined by keeping the fish in an aquatic environment and a dry environment. A quarantine environment was created that provided the same conditions as the temperature at which the fish were kept in the aquarium.

Similarly, a 13 °C external environment was set for another infested fish following its death. The procedure was carried out on a glass petri dish in a cooled incubator (Barrow et al., 2019).

2.3. Morphological Identification

The outer surfaces of the infested fish were disinfected with 70% ethanol. The time of death, the length and weight values of the collected fish, the number of parasites, the length and weight values of the parasites were determined. The number and length of parasites taken from each fish according to their abdominal images and fish size during necropsy of fish samples were examined by a SMZ 745T Stereo zoom microscope (Dabara et al., 2020).

2.4. DNA Isolation

L. intestinalis samples obtained from necropsy were exposed to cell lysis at a rate of 50 ms sec⁻¹ for 3 minutes (TissueLyser, Qiagen). Then, total DNAs were isolated using the Qiaamp DNA mini kit in the QIAcube device in accordance with the manufacturer's instructions. The DNA purity was measured by a nano spectrophotometer (Thermo) (Pinchi et al., 2013).

2.5. Primer Synthesis

The primer sets designed for Real-Time PCR were obtained using the 28S rRNA gene region of *L. intestinalis* with access No. KY552819.1 on the NCBI website. The forward primer sequence was synthesized as Li-F-5'-AGATGCCACTGT-TTCTCG-CAC-C-3', while the reverse primer sequence was synthesized as Li-R-5'-AAT-GCA-CGC-CTT-TCC-AAC-GAC-C-3'. The melting temperatures of the designed primers were determined to be 62.1 °C for both forward and reverse primers.

2.6. Real-Time PCR

PCR master mix was prepared with DNA molecules obtained from the parasite samples (2.0 μ l), forward (1.0 μ l) and reverse (1.0 μ l) primers, RT2 SYBRGreen qPCR master mix (10.0 μ l) and DNase-RNase free water (11.0 μ l). The cycle process of the PCR protocol comprised pre-denaturation at 95 °C for 10 min, 95 °C for 45 sec, 62.1 °C for 30 sec and 72 °C for 45 sec and the cycle was repeated 45 times. The final elongation was carried out for 7 min at 72 °C (Hoseinifar et al., 2017). Following the PCR procedure, the HRM procedure was performed from 50 °C to 99 °C, using a Rotorgene Q, 5Plex (Qiagen) with 0.01 °C sensitivity.

2.7. Data analysis

Positive and negative results were evaluated using the Ct (The cycle threshold value) values of sigmoidal curves obtained from Real-Time PCR (Threshold: 0.5).

3. Results

Following the necropsy procedure performed under aseptic conditions, it was seen that external morphological properties of the samples obtained from the fishes were similar to those of the typical *L. intestinalis* (Figure 2). The parasite's significant presence was observed in the abdominal cavities (Figure 3) of infested fish taken from the sampling area.

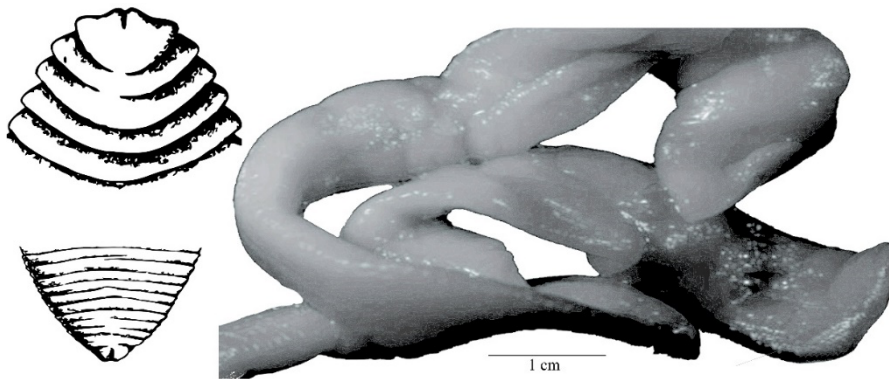


Figure 2. Image of *L. intestinalis* collected from *Barbus ercisianus*.

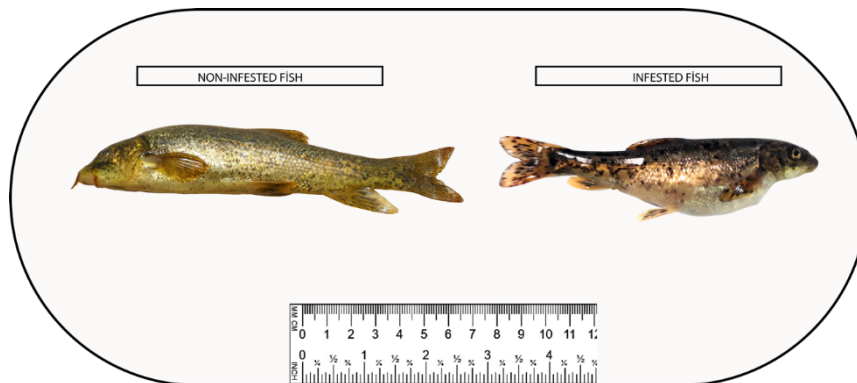


Figure 3. Healthy and infested individuals and abdominal cavity differences.

The average weight of the infested fish (6 of 11) was calculated as 2.75 ± 0.01 g, and the average weight of the parasites was determined to be 0.2 g (Figure 4). The highest parasite weight was 0.3 g, whereas the lowest was 0.17 g. While eight parasites were removed from the most massive 3.46 g fish, three parasites were removed from the lightest 2.04 g fish. The length of the parasites ranged from 6 to 12 cm (Figure 5), while the length of the fish ranged from 5.5 to 8 cm. Images of sampled fish and parasites obtained after necropsy are given in Figure 6 and Figure 7.

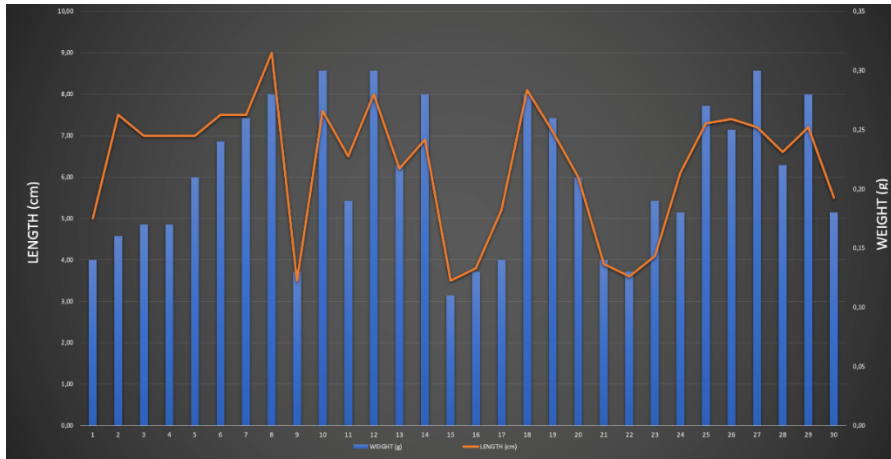


Figure 4. The length and weights of the *L. intestinalis*.

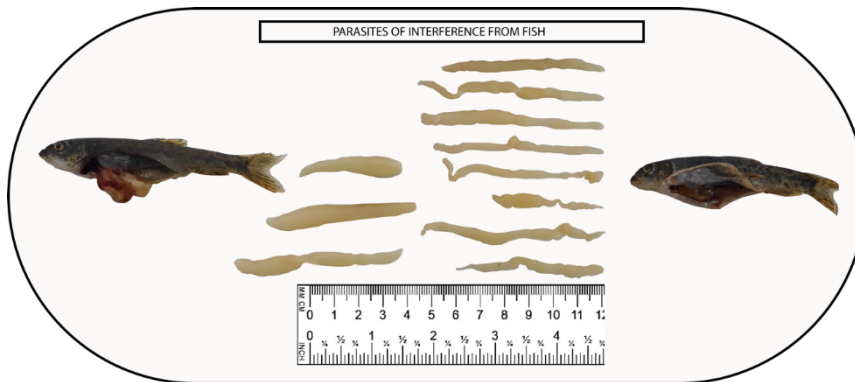


Figure 5. The lengths of some *Ligula intestinalis* in *Barbus ercisianus*.

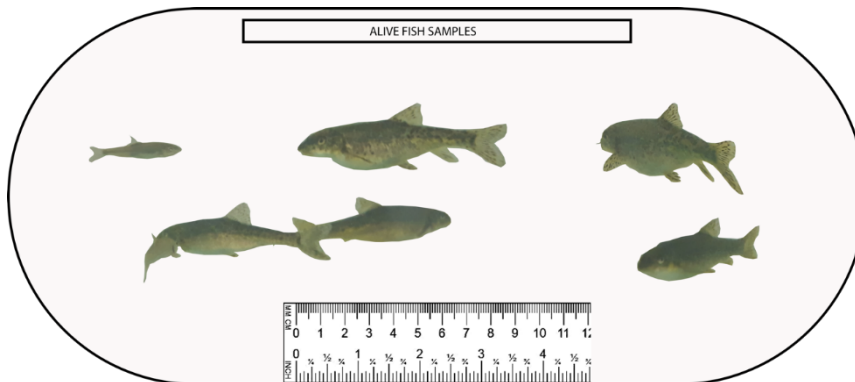


Figure 6. Image drawings of some the sampled fish in the aquarium.

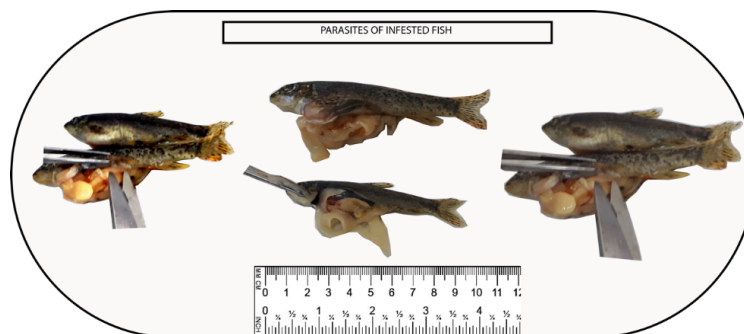
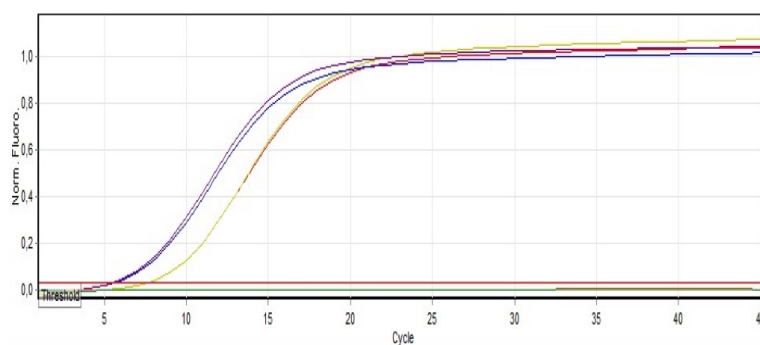


Figure 7. Some necropsied fish samples and their parasites.

It was observed that the symptomatic fish sampled in the natural environment received feeds administered, and their movements in water slowed down. Two of these fish died on the first day of the observation. These fish were kept at the same temperature as the water temperature of the Nemrut Crater Lake. One of the fish was kept in the petri dish to determine the duration of the parasite to leave the host, while another was taken into the aquarium with the same conditions, and the duration of the parasite to leave the host was determined. It was observed that the parasite movements became limited, and the duration of the parasites to leave the host increased due to the decrease in the water content of the fish and drying as macroscopic observations. It was determined that the parasite left the host after 80 min in the aquatic environment and after 130 min in the dry environment.

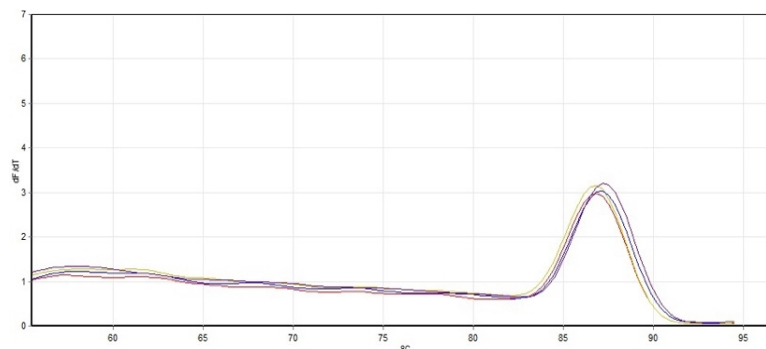
As a result of PCR performed with DNA obtained from the *L. intestinalis* agent, all of the samples yielded sigmoidal curves and positive graphs. The samples in which the master mix, water, and primers were used separately yielded negative results, and it was observed that the compounds used in the study did not give false-positive results. The image obtained in the PCR is given in Figure 8.



■ *L.intestinalis*-1 ■ *L.intestinalis*-2 ■ *L.intestinalis*-3 ■ *L.intestinalis*-4 ■ Primer and water ■ Primer ■ Non-Template control

Figure 8. Real-Time PCR results of parasitic DNAs.

Following the Real-Time PCR procedure, single peaks after HRM analysis with PCR amplicons confirmed the accuracy of PCR primers and the PCR procedure (Figure 9).



■ *L.intestinalis*-1 ■ *L.intestinalis*-2 ■ *L.intestinalis*-3 ■ *L.intestinalis*-4 ■ Primer and water ■ Primer ■ Non-Template control

Figure 9. Image of HRM analysis with PCR amplicons.

4. Discussion and Conclusion

The word endemic is used based on climate and soil characteristics for plant and animal creatures spread in a specific region on earth. The Van Lake Basin is rich in endemic fish species. In addition to *B. ercisianus*, other fish species, including *Alburnus tarichi*, *Alburnus timarensis*, *Capoeta kosswigi*, and *Oxynoemacheilus ercisianus*, also show the distribution in the basin (Şen et al., 2018). It is essential to identify the problems encountered in terms of the protection and monitoring of these endemic species. *L. intestinalis* infestation was reported for the first time in the *B. ercisianus* and in the Nemrut Crater Lake, which requires monitoring.

L. intestinalis is a type of endoparasite that causes death in fish. This species is commonly seen in the species belonging to the Cyprinidae family. The mature ones are found in aquatic birds' intestines, while the larvae (plerocercoids) are found in freshwater fish. The first studies related to this species were done by Başaran and Kelle (1976) and Cantoray and Özcın (1975) in Turkey. Various studies were carried out on this infestation in fish in Turkey (Uzbilek and Yıldız, 2002; İnnal et al., 2007; Demirtaş and Altındağ, 2011; Koyun et al., 2015; Saç et al., 2015) and in the World (Olson et al., 2002; Bouzid et al., 2008a; Hajirostamloo, 2009; Mehraban et al., 2015).

Although regular morphological appearances in the determination of parasitic infestations in fish are required, molecular methods are also frequently performed to identify subspecies accurately. In the identification studies carried out by PCR, some researchers have reported that more specific results were obtained as a result of utilizing primers designed using housekeeping genes and PCR procedures (Flisser et al., 1988; Rishi and McManus, 1988; Harrison et al., 1990). Also, it has been reported that, although the visual identification of parasitic infestations was useful, specificity was not very clear. Indeed, it has been reported that identifying two different species from the same family might be challenging. On the other hand, studies conducted using DNA have been reported to have higher specificity; however, the costs of such studies have been shown as a disadvantage (Flisser et al., 1988; Rishi and McManus, 1988; Harrison et al., 1990; Chapman et al., 1995). In this study, the agents' identifications were carried out by both external morphological forms and Real-Time PCR.

The primers from 28S rRNA gene regions were designed for molecular identification, and PCR was performed. Similarly, some researchers have stated that they carried out identification and genetic variation studies with PCR by designing specific primers and have reported that the studies using molecular methods yielded higher specificity (Gonzalez et al., 2002; Bouzid et al., 2008b). Also, in another study by (Gonzalez et al., 2004) in which the researchers compared the identifications using diagnostic methods, it was reported that the multiplex PCR method had higher specificity and sensitivity. The populations of *L. intestinalis* and its place in the ecosystem, the survival of the species in the presence of predators such as cockroaches, and the environmental factors on the chances of finding a host in such a case of the parasite were investigated. (Wyatt and Kennedy, 1989). Considering that this parasite is also carried by birds (Stefka et al., 2007), its detection for the first time in the Nemrut Region and the fact that fish species are endemic reveals the possibility of parasite transmission through migratory birds.

The average length of the parasites isolated in this study was found to be 6-12 cm. The maximum fish fork length was measured as 8 cm. Therefore, it was concluded that the parasite develops in direct proportion to the host's feeding and size. However, the growth of the parasites removed from the same fish is an obstacle to the feeding of another, leading to a consequent reduction in their length. Like the results obtained in the present study, the length of the parasites isolated ranged between 6 and 12 cm in the study investigating the *L. intestinalis* populations and their life cycle conducted by Kennedy and Burrough (1981). It was also reported that the fish infected by the parasite died in their second winter or after the summer.

It was observed that the infected fish continued to feed but were under stress compared to normal behaviour. Their movements were first sudden and then became stable. Although the abdominal cavity of the fish was filled with parasites, feed intake was thought to be due to nutritional reflexes. It can be argued that the parasites both cause stress in the body and excessively stimulate the body's immune system. In another study, changes in the expression levels of genes in brain and liver tissues were investigated in *L. intestinalis*-infected roaches (*Rutilus rutilus*) (Boulangue-Lecomte et al., 2011). The researchers reported an increase in the IGF genes associated with immunity, especially in females, by about 190%, whereas only a partial increase was observed in males compared to the uninfected samples.

In this study, *L. intestinalis* infestation was identified in September 2018. The other researcher also reported that the infestation was seen in these months (Demirtaş and Altındağ, 2011). However, based on the annual examinations according to the years, it is seen that infestation can be seen in any month of any season. Similar to the sampling period in this study, it was reported that *L. intestinalis* infestation was seen intensively in July, August, and September (Saç et al., 2015).

In fish diseases, taking prophylactic measures and treatment are of great importance. It was reported that chemicals including Acetic acid, Betadine, Bithionol, Chloramine-T, Copper sulfate, Formaldehyde, Hydrogen peroxide, Ivermectin, Levamisole, Mebendazole, Metronidazole, Niclosamide, Potassium permanganate, Praziquantel, Salt and Triclorphon were used for the treatment

of parasitic diseases in fish depending on the species and administration dose, and successful results were achieved (Kayis et al., 2009).

In conclusion, it is essential to monitor studies conducted in areas where *L. intestinalis* infestation is common, especially in areas where endemic species live. We believe that taking precautions during migration periods of birds carrying parasite infestation in closed basins and performing routine seasonal controls are very important for endemic species and parasite spread.

Acknowledgment

This study was conducted in compliance with all institutional, national, and international guidelines on the care and use of animals. This study was carried out with the permission of the Van Yuzuncu Yıl University, Local Ethics Committee of Animal Experiments dated 25/10/2018 and numbered 2018/10.

References

- Adızel, O., Yıldız, M. Z., Ünal, M., Azizoğlu, E., Öztürk, F., & Akman, B. (2017). Biodiversity of Van Reed, Eastern Turkey. *Commagene Journal of Biology* 1, 16-26.
- Barrow, L. N., McNew, S. M., Mitchell, N., Galen, S. C., Lutz, H. L., Skeen, H., ... & Witt, C. C. (2019). Deeply conserved susceptibility in a multi-host, multi-parasite system. *Ecology letters*, 22(6), 987-998.
- Başaran, A., & Kelle, A. (1976). Devegeçidi Baraj Gölü'nde yaşayan bazı balık türlerinde *Ligula intestinalis*, plerocercoidlerinin yayılma oranı ve etkileri. *Biyoloji Dergisi* 26, 45-56.
- Boulangé-Lecomte, C., Geraudie, P., Forget-Leray, J., Gerbron M., & Minier C. (2011). *Ligula intestinalis* infection is associated with alterations of both brain and gonad aromatase expression in roach (*Rutilus rutilus*). *Journal of Helminthology*, 85(3), 339-344.
- Bouزيد, W., Lek, S., Mace, M., Ben Hassine, O., Etienne, R., Legal, L., & Loot G. (2008a). Genetic diversity of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphyllbothriidea) based on analysis of inter-simple sequence repeat markers. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 46, 289-296.
- Bouزيد, W., Stefka, J., Hypsa, V., Lek, S., Scholz, T., Legal, L., Hassine, O. K. B., & Loot, G. (2008b). Geography and host specificity: Two forces behind the genetic structure of the freshwater fish parasite *Ligula intestinalis* (cestoda: Diphyllbothriidae). *International Journal for Parasitology* 38, 1465-1479.
- Cantoray, R., & Özcan, A. (1975). Ligulose in freshwater fish in Elazığ. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2, 298-301.
- Cetinkaya, O. (1993). Van Gölü Havzası su kaynakları ve balıkçılık potansiyeli. *Doğu Anadolu I. Su Ürünleri Sempozyumu*, Erzurum, Turkey, pp. 71-83.
- Chapman, A., Vallejo, V., Mossie, K. G., Ortiz, D., Agabian, N., & Flisser, A. (1995). Isolation and characterization of species-specific DNA probes from *Taenia solium* and *Taenia saginata* and their use in an egg detection assay. *Journal of Clinical Microbiology* 33, 1283-1288.
- Dabara, D. D., & Takiso, G. E. (2020). Molecular identification of the parasite *ligula intestinalis* identified in *alburnus adanensis*. *Asian Journal of Science and Technology*, 11(01), 10700-10707.
- Demirkuş, N., Koyuncu, M., & Gül, M. (2018). Endemic plants of Lake Van Basin. *Anatolian Journal of Botany* 2, 70-83.
- Demirtaş, M., & Altındağ, A. (2011). The seasonal infection distribution of *Ligula intestinalis* Plerocercoid L., 1758 on some fishes (Cyprinidae) living in Terkos Lake. *Van Veterinary Journal* 22, 147-151.
- Elp, M., Atıcı, A. A., Şen, F., & Duyar, H. A. (2016). Van Gölü Havzası balıkları ve yayılım bölgeleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 26, 563-568.
- Flisser, A., Reid, A., Garcia-Zepeda, E., & Mcmanus, D. (1988). Specific detection of *Taenia saginata* eggs by DNA hybridisation. *Lancet* 17, 1429-1430.
- Geldiay, R., & Balık, S. (2009). Türkiye Tatlısu Balıkları. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.

- Gonzalez, L. M., Montero, E., Morakote, N., Puente, S., De Tuesta, J. L. D., Serra, T., López-Velez, R., Mcmanus, D. P., Harrison, L. J., & Parkhouse, R. M. E. (2004). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica taeniasis* through PCR. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 49, 183-188.
- Gonzalez, L. M., Montero, E., Puente, S., López-Velez, R., Hernández, M., Sciutto, E., Harrison, L. J., Parkhouse, R. M. E., & Gárate, T. (2002). PCR tools for the differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium taeniasis/cysticercosis* from different geographical locations. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 42, 243-249.
- Hajirostamloo, M. (2009). A report on occurrence and parasite-host of *Ligula intestinalis* in Sattarkhan Lake (East Azerbaijan-Iranian). *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 3, 458-461.
- Harrison, L., Delgado, J., & Parkhouse, R. (1990). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* with DNA probes. *Parasitology* 100, 459-461.
- İnnal, D., Keskin, N., & Erk'akan, F. (2007). Distribution of *Ligula intestinalis* in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 7, 19-22.
- Karaman, M. (1971). Revision der barben europas, vorderasiatischen arten des genus capoeta (varicorhinus, partim). *Ham Zool Mus Ins* 66, 17-54.
- Kayis, S., Ozcelep, T., Capkin, E., & Altınok, I. (2009). Protozoan and metazoan parasites of cultured fish in Turkey and their applied treatments. *Israeli Journal of Aquaculture – Bamigdeh* 61, 93-102.
- Kennedy, C., & Burrough, R. (1981). The establishment and subsequent history of a population of *Ligula intestinalis* in roach *Rutilus rutilus*. *Journal of Fish Biology* 19, 105-126.
- Koyun, M., Ulupınar, M., & Gül, A. (2015). Seasonal distribution of metazoan parasites on kura barbell (*Barbus lacerta*) in Eastern Anatolia, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology* 47, 1253-1261.
- Kuluöztürk, M. F., & Doğru, M. (2015). Natural radioactivity levels on surface water of Nemrut Crater Lake (Bitlis, Turkey). *Acta Physica Polonica A* 128, 397-399.
- Kurtaş, T., & Tezcan, L. (2018). Water resources potential of Nemrut Caldera Lakes. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences* 22, 823-831.
- Mehraban, H. R., Sayyadzadeh, G., Malekzahi, H., & Ahmadi, A. (2015). First report of infection with the tapeworm *Ligula intestinalis* (Linnaeus, 1758) plerocercoids in persian bleak, *Alburnus hohenerkeri kessler*, 1870 in Southeastern Iranian. *Iranian Journal of Ichthyology* 1, 12-16.
- Olson, P., Littlewood, D., Griffiths, D., Kennedy, C., & Arme, C. (2002). Evidence for the co-existence of separate strains or species of *Ligula* in lough neagh, Northern Ireland. *Journal of Helminthology* 76, 171-174.
- Önalın, S. (2016). Determination of phenotypic, serotypic and genotypic differences between Garvieae isolates obtained from rainbow trout farms in Van, Bitlis, Mus and Hakkari provinces. In: PhD Thesis. Van Yuzuncu Yıl University, Institute of Science, Van, Turkey.
- Pinchi, V., Focardi, M., Martinelli, D., Norelli, G., Carboni, I., Gozzini, A., Romolini, C., Torricelli, F., & Ricci, U. (2013). DNA extraction method from teeth using qiacube. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 4, 276-277.
- Rishi, A., & Mcmanus, D. (1988). Molecular cloning of *Taenia solium* genomic DNA and characterization of taeniid cestodes by DNA analysis. *Parasitology* 97, 161-176.
- Saç, G., Serezli, E. E., & Okgerman, H. (2015). The occurrence of *Ligula intestinalis* in its fish host *Rutilus rutilus* and the effects of parasite on the fish growth (Büyükçekmece Reservoir, Turkey). *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research* 2, 142-150.
- Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172, 63-92.
- Şekercioğlu, Ç. H., Anderson, S., Akçay, E., Bilgin, R., Can, O. E., Semiz, G., Tavşanoğlu, Ç., Yokeş, M. B., Soyumert, A., İpekdağ, K., Sağlam, I. K., Yücel, M., & Dalfes, H. N. (2011). Turkey's globally important biodiversity in crisis. *Biological Conservation* 144, 2752-2769.
- Şen, F., Atıcı, A. A., & Elp, M. (2018). Van Gölü Havzası endemik balık türleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 28, 63-70.
- Stefka, J., Gilleard, J., Grillo, V., & Hypsa, V. (2007). Isolation and characterization of microsatellite loci in the tapeworm *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea). *Molecular Ecology Notes* 7, 794-796.

- Toyran, K., Adızel, Ö., & Azizoğlu, E. (2018). Road kills of mammal species in the Van Lake Basin (Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 11, 40-44.
- Uzbilek, M. K., & Yıldız, H. Y. (2002). A report on spontaneous diseases in the culture of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val. 1844), Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 26, 407-410.
- Wyatt, R., & Kennedy, C. (1989). Host-constrained epidemiology of the fish tapeworm *Ligula intestinalis*. *Journal of Fish Biology* 35, 215-227.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Determination of the Effect of Different Organic Fertilizers Applications on Soil Quality Using the SMAF Model

Pelin ALABOZ^{*1}, Orhan DENGİZ², Sena PACCI³, Sinan DEMİR⁴, Cengiz TÜRKAY⁵

^{1,4} Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science and Plant Nutrition, 32200, Isparta, Turkey

^{2,3} Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science and Plant Nutrition, 55139, Samsun, Turkey

⁵ Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, 32200, Isparta, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-7345-938X>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0458-6016>, ³<https://orcid.org/0000-0001-6661-4927>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-1119-1186>, ⁵<https://orcid.org/00000-0003-3857-0140>

*Corresponding author e-mail: pelinalaboz@isparta.edu.tr

Article Info

Received: 28.10.2021

Accepted: 11.01.2022

Online published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1015943

Keywords

Organic fertilizer,
SMAF model,
Soil quality

Abstract: Soil is an essential resource for terrestrial life. That's why it is vital to use it without causing any harm to its ecological and economic functions. This current study was carried out to investigate the effect of different organic materials (farmyard manure, vermicompost, leonardite, rose pulp, biochar, biogas waste, seaweed) on soil quality using the SMAF model in Isparta province, which has a semi-arid ecological characteristic. Thirteen soil quality indicators were used to determine the physical, chemical, and biological soil quality of the SMAF model. In this study, twelve indicators were used, which were: bulk density, aggregate stability, available water content, water-filled pore space, organic carbon, pH, electrical conductivity, sodium adsorption ratio, available potassium and phosphorus, microbial biomass carbon, and beta-Glucosidase enzyme activity. In general, the applied organic wastes had a positive effect on the quality characteristics of the soils. The lowest quality was determined in the control (50%) and seaweed (51%) applications, while the highest quality increase was determined in the rose pulp application (60%) and vermicompost application (56%). Other applications did not cause significant changes according to SMAF scoring. The most important effects of low quality scores were determined as biological quality indicators. According to the results obtained, organic waste application for sustainable soil management has an important place in increasing the physical, chemical, and biological soil quality properties of agricultural soils, especially in the arid and semi-arid areas of our country, as well as increasing the general soil quality index values.

To Cite: Alaboz, P, Dengiz, O, Pacci, S, Demir, S, Türkay, C, 2022. Determination of the Effect of Different Organic Fertilizers Applications on Soil Quality Using the SMAF Model. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 21-32. DOI:10.29133/yyutbd.1015943

Farklı Organik Atık Uygulamasının Toprak Kalitesi Üzerine Etkisinin SMAF Modeli ile Belirlenmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 28.10.2021

Kabul: 11.01.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1015943

Anahtar Kelimeler

Organik atık,
SMAF modeli,
Toprak kalitesi

Öz: Toprak, karasal yaşam için önemli bir kaynaktır. Bu nedenle toprakları, ekolojik ve ekonomik işlevlerinden herhangi bir zarar vermeden kullanmak hayati önem taşımaktadır. Bu çalışma, yarı kurak ekolojik özelliğe sahip Isparta ilinde SMAF modeli kullanılarak farklı organik materyallerin (ahır gübresi, vermikompost, leonardit, gül posası, biyokömür, biyogaz atığı, deniz yosunu) toprak kalitesi üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. SMAF toprakların fiziksel, kimyasal ve biyolojik toprak kalitesinin yanı sıra genel toprak kalitesinin ortaya konulmasında on üç adet toprak kalite indikatörü kullanılmaktadır. Bu çalışmada ise hacim ağırlığı, agregat stabilitesi, su dolu gözenek hacmi, yarayışlı su içeriği, organik karbon, pH, elektriksel iletkenlik, sodyum adsorpsiyon oranı, yarayışlı potasyum ve fosfor, mikrobiyal biyokütle karbonu ve beta-Glukosidaz enzim aktivitesinden oluşan on iki indikatör kullanılmıştır. Uygulanan organik atıkların geneli, toprakların kalite özellikleri üzerinde olumlu etkide bulunmuş olup, en düşük kalite, kontrol (% 50) ve deniz yosunu (% 51) uygulaması ile belirlenirken en yüksek kalite artışı gül posası uygulaması (% 60) ile vermikompost uygulamasında (% 56) belirlenmiştir. Diğer uygulamalar SMAF skorlamalarına göre önemli değişimlere neden olmamıştır. Kalite skorlarındaki düşüklüğün en önemli etkisi biyolojik kalite indikatörleri olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, özellikle ülkemizin kurak ve yarı kurak alanlarında dağılım gösteren düşük veya orta seviyede bulunan tarım topraklarının, toprak fiziksel, kimyasal ve biyolojik toprak kalite özelliklerinin yanı sıra genel toprak kalite indeks değerlerinin yükseltilmesinde sürdürülebilir bir toprak yönetimi için organik atık uygulamasının önemli bir yer aldığı görülmektedir.

1. Giriş

Nüfusun hızla artması arz ve taleplerdeki dengesizlikler, amaç dışı arazi kullanımlarının gün geçtikçe artmasına yol açmaktadır. Arazilerin alansal olarak azalmasına rağmen, topraktan üretim için olan talebin artması daha yoğun girdi kullanımı ile birim alandan daha yüksek miktarda üretim yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Ayrıca, mera ve ormanlık alanların tarım arazisine dönüştürülmesi, yoğun toprak işleme, aşırı gübre ve pestisit kullanımı toprağın verimlilik ve kalite parametrelerini negatif yönde etkilemektedir. Toprakların karakteristiklerine uygun planlı kullanım ve yönetimle toprakların korunmasını sağlayabilmek için, toprakların üretkenlik fonksiyonlarının belirlenmesi ve değerlendirilmesi gerekmektedir. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik toprak özelliklerinin birlikte incelenmesi ile toprağın farklı fonksiyonlarının değerlendirilmesi mümkündür. Toprak kalitesi; ekosistem içindeki bir toprağın bitki ve hayvan üretimini sürdürme, su ve hava kalitesini iyileştirme ve insan sağlığı için eksiksiz bir yaşam ortamı sağlama kapasitesidir (Doran, 2002). Toprak kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan farklı kalite indeks modelleri birçok araştırmacı tarafından kullanılmaktadır (Şeker ve ark., 2017; Şenol ve ark., 2020).

Toprak kalitesinde etkili birçok faktör bulunmakta olup hepsinin belirlenmesi hem güç hem de maliyetli olmaktadır. Bunun için kalitenin değerlendirilmesinde uygun indikatörlerin seçilmesi ve değerlendirilmesi oldukça önemlidir (Negiş ve Şeker, 2019). Günümüzde çok sayıda arazi ve toprak kalite değerlendirme yöntemleri bulunmaktadır. Arazi kalitesi indeks metodu, dinamik çok değişkenli arazi kalitesi metodu, arazi test kitleri, Toprak Amenajmanı Değerlendirme Çerçevesi (SMAF-Soil Management Assessment Framework) ve Toprak Sağlığı Değerlendirmesi (Cornell Soil Health Assessment) (Andrews ve ark., 2004; Gugino ve ark., 2009) Muencheberg toprak kalite oranlaması, LSRS (Arazi uygunluk oranı indeksi), VSA (Toprak kalitesini görsel değerlendirme), Akdeniz bölgeleri için uygun olan MicroLEIS DSS metodu dünyaya entegre edilmek istenen toprak kalitesini en iyi şekilde değerlendirmek ve ürün verimine en yakın sonucu almak için geliştirilen metotlardır (Mueller ve ark., 2007; De La Rosa ve ark., 2009).

Toprak kalitesi değerlendirmelerinde Amerika Tarım Bakanlığı personeli tarafından geliştirilen SMAF modeli kalite indikatörlerinin değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bu metot, iklim,

topografya, ana materyal gibi temel toprak oluşum faktörlerini yansıtan ve genetik toprak kalitesinden ziyade uygulanan amanjmandan etkilenen dinamik toprak kalitesini yansıtmaktadır. SMAF, elektriksel iletkenlik, pH, organik karbon, agregat stabilitesi, sodyum adsorpsiyon oranı, yarayışlı potasyum ve fosfor, mikrobiyal biyokütle karbonu, hacim ağırlığı, su dolu gözenek hacmi, yarayışlı su içeriği, beta-Glukosidaz enzim aktivitesi, mikrobiyal biyokütle karbonu ve potansiyel mineralize olabilir azot indikatörlerini içermektedir (Andrew ve ark., 2004). Erkossa ve ark. (2007), tarafından farklı toprak işleme yöntemlerinin toprak kalitesi (SQ) üzerine etkilerini SMAF metoduyla değerlendirdikleri çalışmada; analiz edilen indikatörler arasında mikrobiyal biyokütle karbonu, hacim ağırlığı, agregat stabilitesi, toprak organik karbonu, pH, faydalı su kapasitesi ve yarayışlı fosfor olmak üzere 7 indikatör minimum veri seti olarak seçilmiş ve arazi yönetiminin değerlendirilmesinde etkili bir yöntem olarak belirtilmiştir. Şeker ve ark. (2017), tarafından şeker pancarı ve buğday ekili alanlarda SMAF ve CSHA yöntemleri ile toprak kalitesini belirlemeye yönelik yapılan çalışmada; skorlama fonksiyonu ile yapılan toprak kalitesi değerlendirmesi sonucunda buğday ve şekerpancarı yetiştirilen toprakların kalitesini sırasıyla orta ve düşük olarak sınıflamışlardır. Düşük toprak kalite puanlarının özellikle fiziksel ve biyolojik toprak özelliklerine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Alaboz ve ark. (2021), tarafından biyogaz atığı uygulamalarının toprak kalitesi ve verim üzerine etkilerinin inceledikleri çalışmalarında, kontrol uygulamasında II. sınıf olan toprakların kalite indeksi biyogaz atığı uygulamalarıyla III. ve IV. sınıf olarak belirlenmiştir. Özenç ve ark. (2006), fındık zurufu kompostu, turba, çiftlik gübresi ve tavuk gübresinin toprak özellikleri, verim ve kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında tavuk gübresi ve çiftlik gübresinin genellikle kimyasal toprak özellikleri, fındık zurufu kompostu ve turbanın ise fiziksel toprak özellikleri üzerinde etkili olduğunu bildirmiştir. Pacci ve ark. (2021), Van Havzası içerisinde bulunan mera arazileri toprakların SMAF modeli aracılığıyla kalite durumunu değerlendirdikleri çalışmalarında, kimyasal toprak kalite indeksini düşük, biyolojik toprak kalite indeksini yüksek, fiziksel toprak kalite indeksi sınıfı ise orta sınıfta belirlemişlerdir. Yine çeşitli gübre uygulamalarına bağlı olarak toprak kalite skorlarında değişikliklerin olduğu, yapılan çalışmalar ile de ortaya konmuştur (Kuzucu, 2019; Wu ve ark., 2020).

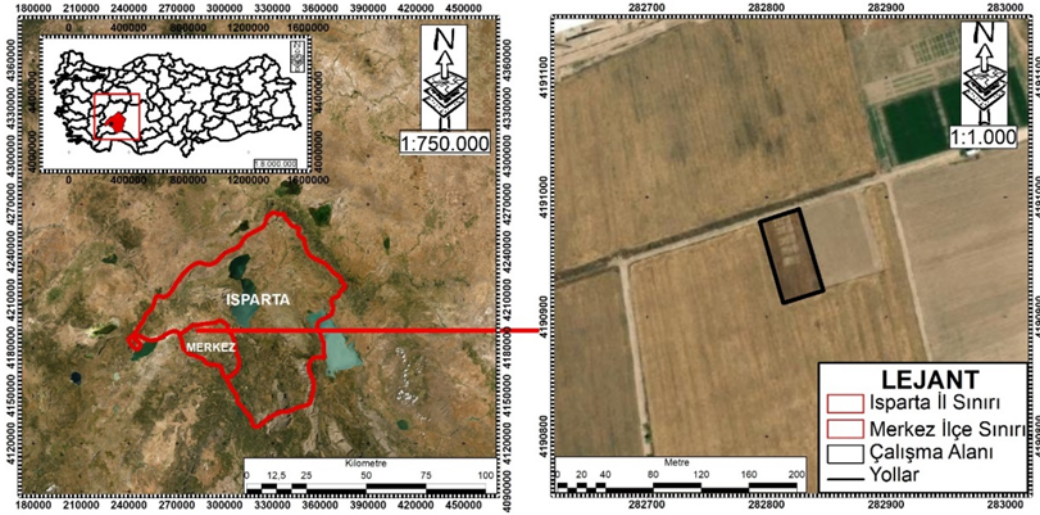
Bu çalışmada, farklı organik gübre kaynaklarının toprakların fiziksel, kimyasal, biyolojik toprak kalite özellikleri üzerine etkisinin yanı sıra toplam toprak kalite indeksi üzerine etkisinin SMAF kalite skorlama fonksiyonları ile ortaya konması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Çalışma alanı genel özellikleri

Çalışma alanı Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi kampüsü içerisinde, Isparta-Burdur Karayolunun doğusunda yer almakta olup WGS 1984 UTM Zone 36N 283100- 282921 kuzey ve 4190355-4191399 doğu enlemleri koordinatlarındadır (Şekil 1).

Çalışma alanının uzun yıllar meteorolojik verilerine göre bölgedeki yarı kurak iklim tipi hakimdir. Uzun yıllar (1929-2020) yıllık ortalama sıcaklık, yağış sırasıyla 12.3°C, 569.4 mm'dir (MGM, 2021). Çalışma alanının toprak iklim rejimi Newhall simülasyon modeline göre (Van Wambeke, 2000), toprak sıcaklığı ve nem rejimleri sırasıyla mesic ve xeric (alt grupta kuru xeric) olarak belirlemişlerdir.



Şekil 1. Çalışma alanı lokasyon haritası.

2.2. Denemenin kurulması ve yürütülmesi

Çalışma tesadüf blokları deneme desenine bağlı olarak 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Deneme 27 Ekim 2021 tarihinde kurulmuş, organik materyaller yaklaşık 0-20 cm derinliğe karıştırılmıştır. Organik materyal olarak ahır gübresi (2 ton da⁻¹), vermikompost (750 kg da⁻¹), leonardit (1 ton da⁻¹), gül posası (2 ton da⁻¹), gül posasından elde edilen biyokömür (% 1), biyogaz atığı (2 ton da⁻¹), deniz yosunu (500 kg da⁻¹) kullanılmıştır. Uygulama dozları araştırmalar incelenerek belirlenmiştir (Alaboz ve Ark., 2017; Alaboz ve Işıldar, 2018; Aydın ve ark., 2018; Alaboz ve ark., 2021). Uygulanan organik materyallerin özellikleri Çizelge 1’de belirtilmiştir. Tohum materyali olarak mercimek (Ankara Yeşili) kullanılmış ve metrekareye 250 adet tohum hesabıyla, 3-4 cm derinliğe elle ekimi yapılmıştır.

Çizelge 1. Organik materyallerin bazı özellikleri

Uygulamalar	Organik Madde (%)	pH	EC (dS/m)	C/N
Ahır gübresi (AG)	48.7	8.89	2.19	13.1
Vermikompost (VK)	64.3	6.80	2.07	24.6
Leonardit (L)	49.4	6.10	2.89	13.4
Gül posası (GP)	68.3	3.51	1.22	25.2
Biyokömür (BK)	55.4	8.82	0.540	25.4
Biyogaz atığı (BA)	46.7	7.70	1.44	12.1
Deniz Yosunu (DY)	45.7	7.58	3.45	11.7

2.3. Toprak örnekleme ve analizler

Toprak örnekleri 7 Haziran 2021 tarihinde 0-20 cm derinliği temsil edecek şekilde alınmıştır. Topraklar laboratuvara aktarıldıktan sonra bir kısım örnek biyolojik analiz için ayrılmış +4 °C’de saklanmıştır. Diğer fiziksel ve kimyasal analizler için hava kuru hale getirilen örnekler 2 mm’lik elekten geçirilerek analizlerde kullanılmıştır.

Bu çalışmada fiziksel toprak özelliklerinden tekstür, toplam gözeneklilik (Burt, 2014), agregat stabilitesi (Kemper ve Rosenau 1986), hacim ağırlığı (Blake ve Hartge, 1986), tarla kapasitesi, solma noktası ve yarıyıllı su içeriği (Klute, 1986), su ile dolu gözenek hacmi (Doran ve ark., 1990), kimyasal özelliklerden yarıyıllı fosfor (Olsen ve ark., 1954), değişebilir potasyum (Thomas, 1982), saturasyon çamuru süzüğünden Na, Ca ve Mg belirlemelerine göre sodyum absorpsiyon oranı, saturasyon çamurunda pH-elektriksel iletkenlik, kalsimetrik yöntemle kireç, walkey black yöntemine göre organik karbon (Burt, 2014) ve biyolojik toprak özelliklerinden; mikrobiyol biyomas karbon (Öhlinger, 1993) ve β-Glucosidase aktivitesi (Arcak ve ark., 1997) özellikleri belirlenmiştir.

Organik materyallerin pH ve EC içerikleri 1:5 toprak su süspansiyonunda, organik madde seviyeleri kuru yakma, N içerikleri ise Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir (Kacar, 2009)

2.4. Toprak kalitesinin değerlendirilmesi

SMAF modeli, toprakların tarımsal üretkenlik ve ekolojik fonksiyonlarını karşılama yeteneklerinin değerlendirmektedir. SMAF modelinde toprakların fiziksel özelliklerinden hacim ağırlığı (HA), agregat stabilitesi (AS), su dolu gözenek hacmi (SDGH), ve yarayışlı su içeriği (YSİ), kimyasal özelliklerinden organik karbon (OK), pH, elektriksel iletkenlik (EC), sodyum adsorpsiyon oranı (SAR), yarayışlı fosfor (P) ve potasyum (K) ile potansiyel mineralize azot, biyolojik özellikler içerisinde ise mikrobiyal biyokütle karbonu (MBK) ve beta-Glukosidaz enzim aktivitesi indikatörleri değerlendirilmektedir (Andrews ve ark., 2004). Bu çalışma kapsamında, potansiyel mineralize olabilir azot dışında on iki indikatör kullanılmıştır. Model içerisinde skorlamada doğrusal olmayan skorlama fonksiyonları kullanılmaktadır. Skorlama eğrilerinde 3 farklı yaklaşım bulunmaktadır. Bunlar; daha az daha iyidir, orta nokta optimumdur, daha fazla daha iyidir şeklindedir. Özelliklerin kalite üzerine katkıları değerlendirilerek bu 3 skorlama fonksiyonu dikkate alınarak skorlanmaktadır. Her bir özelliğin doğrusal olmayan skorlama eğrisinin bir algoritması veya alternatif algoritmaları kullanılmaktadır. Model içerisinde her bir indikatörün algoritmalarına göre değerler normalize edilerek skorlanmaktadır. Model içerisinde 150 ürün çeşidine göre değerlendirmeler yapılmaktadır. Ürün çeşidine, iklim özelliği ve toprak sınıflamasına bağlı olarak indikatörlerin skorlama değerleri değişebilmektedir. Ayrıca bölgesel iklim verisi, minerolojik ve pedolojik özellikler ve toprak sınıflaması gibi bazı özelliklere ait bilgilerde değerlendirilmektedir. Bu amaçla SMAF modeli eklemeli indeks, toprak kalite indeksi (TKİ) yöntemini kullanmaktadır (Eş. 1).

$$TKİ = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} * 100 \quad (1)$$

TKİ: Toprak kalite indeksi, Xi: skorlama yapılan indikatör değeri, n: indikatör sayısı. Sonuçlara göre toprak kalite skorlaması çok düşük (<40), düşük (40-55), orta (55-70), yüksek (70-85) ve çok yüksek (> 85) olarak sınıflandırılmaktadır (Gugino ve ark., 2009).

Uygulamaların etkilerinde ortalamalar arasındaki farklılıkların olup olmadığının belirlenmesinde ANOVA yöntemi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. Toprak özellikleri arasındaki ilişkilerin incelenmesinde spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. Söz konusu istatistiksel değerlendirmeler MINITAB 17 paket programı aracılığıyla yapılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Toprakların biyo-fizikokimyasal özellikleri

Killi tınlı tekstüre sahip (% 36.7 kil, % 35.2 silt, % 28.1 kum) deneme toprağının uygulamalar sonucunda incelenen toprak özellikleri ve kalite indikatörlerinin temel tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 2'de belirtilmiştir. Uygulama sonucunda toprakların pH değerleri 8.01 ile 8.36 arasında değişim gösterirken, tuzluluk ortalaması 0.14 dS m⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bitkiye yarayışlı fosfor ve potasyum içeriklerinde ortalama olarak sırasıyla 6.72 ve 360.63 mg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir. Birçok araştırmacı (Şenol ve ark., 2020; Dengiz, 2020) toprak özelliklerindeki değişimlerin açıklanmasında önemli bir gösterge olarak değişkenlik katsayısını göz önüne almakta ve Wilding (1985)'e göre düşük (<% 15), orta (% 15-35) ve yüksek (> % 35) olarak sınıflandırılmaktadır. Yapılan bu çalışmada; ele alınan indikatörler arasında EC, SAR ve beta-Glukosidaz enzim aktivitesi orta, diğer tüm indikatörler ise düşük değişkenlik gösterdikleri belirlenmiştir. Uygulamalar sonucu incelenen fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler ile hesaplanan toprak kalite indeksi en düşük % 51 yani düşük sınıf olarak belirlenirken, en yüksek ise %60 skor ile orta sınıf olarak belirlenmiştir.

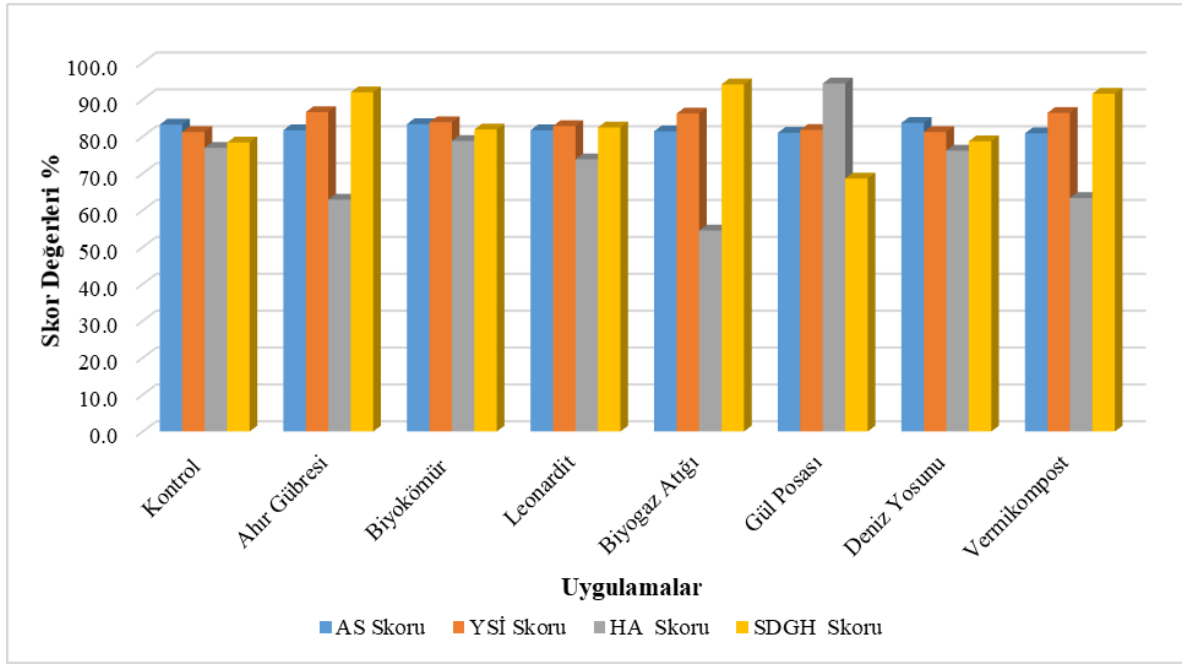
Çizelge 2. Toprak özellikleri ve kalite indikatörlerinin tanımlayıcı istatistikleri

İndikatörler	Ort.	St.Sap.	VK	Min.	Max.	Çarp.	Bas.
HA-g cm ⁻³	1.32	0.06	4.39	1.22	1.42	-0.13	1.69
EC-dS m ⁻¹	0.14	0.04	29.16	0.09	0.22	1.43	2.48
YSİ cm ³ cm ⁻³	0.17	0.01	6.29	0.15	0.18	-0.12	-1.24
SDGH cm ³ cm ⁻³	0.68	0.06	9.58	0.60	0.76	0.22	-1.91
pH	8.10	0.11	1.37	8.01	8.36	2.01	4.66
OK %	1.31	0.03	2.4	1.27	1.35	-0.88	-0.63
AS %	76.23	0.82	1.08	75.12	77.23	-0.31	-1.86
βg - µg p-nitrofenol gkt ⁻¹ h ⁻¹	31.20	5.26	16.87	21.45	38.01	-0.65	0.44
K-mg kg ⁻¹	360.63	10.01	2.78	343.00	378.00	-0.03	1.59
MBK µg C gkt ⁻¹	139.33	13.87	9.96	115.45	158.41	-0.55	-0.2
P- mg kg ⁻¹	6.72	0.28	4.21	6.32	7.09	0.06	-1.58
SAR	0.13	0.03	19.47	0.11	0.19	1.76	3.71
FKTİ %	80.42	1.14	1.43	79.00	83.00	0.24	-0.91
KTKİ %	61.98	6.03	9.73	56.96	75.40	1.96	3.74
BTKİ %	17.63	2.56	14.52	14.00	21.00	-0.09	-1.54
TKİ %	82.38	2.32	4.39	50.32	60.00	1.5	2.96

FKT: Fiziksel Toprak Kalite İndeksi, KTK: Kimyasal Toprak Kalite İndeksi, BTK: Biyolojik Toprak Kalite İndeksi, Toprak Kalite İndeksi, VK: Değişkenlik katsayısı HA: Hacim ağırlığı, EC: Elektriksel iletkenlik, YSİ:Yarayışlı su içeriği, SDGH:Su dolu gözenek hacmi, OK: Organik karbon, AS: Agregat stabilitesi, MBK: Mikrobiyal biyokütle karbonu, SAR: Sodyum adsorpsiyon oranı.

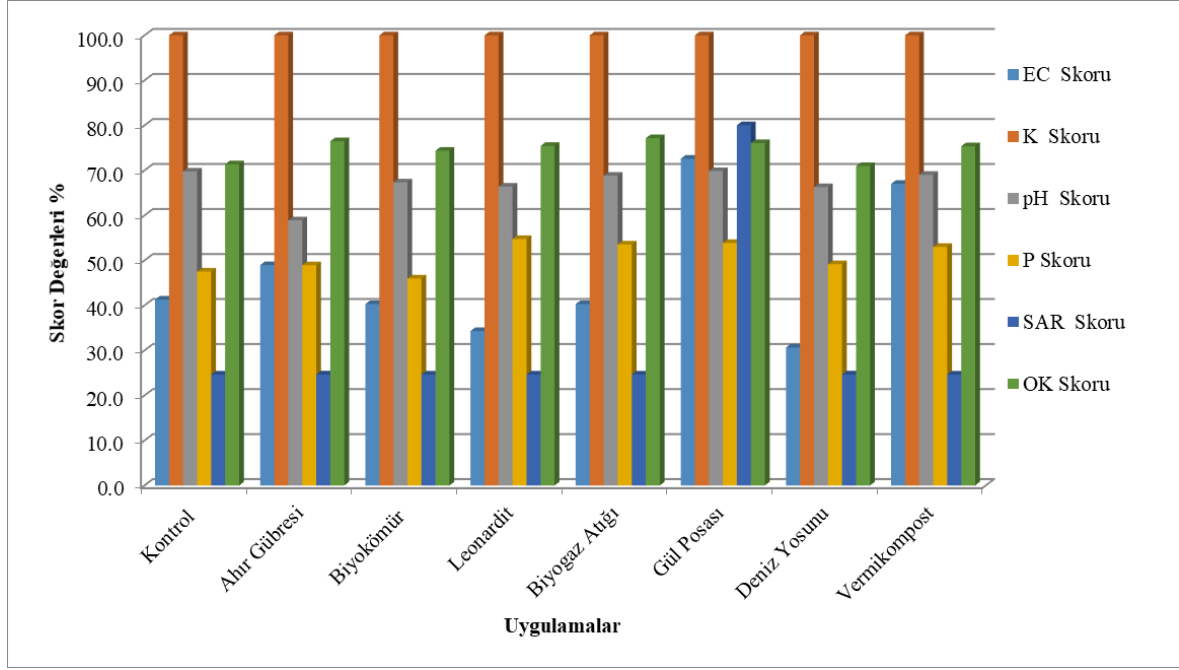
3.2. Uygulamaların ve İndikatörlerin Toprak Kalite Skorları Üzerine Etkisi

Fiziksel toprak indikatörlerin üzerine farklı organik gübre uygulamaların etkisine yönelik skor dağılımı Şekil 2’de verilmiştir. Agregat stabilitesi kalite skoru üzerine en yüksek etki 83.7 ile deniz yosunu uygulamasından elde edilirken, yarayışlı su içeriğinde en yüksek değer (89.6) ahır gübresi uygulamasından elde edilmiştir. Ayrıca, hacim ağırlığı kalite skorlarında en yüksek değer gül posası (94.4) uygulamasında ve su dolu gözenek hacmi fiziksel kalite skor için en yüksek değer olan 96.2 ile biyokömür uygulaması, gül posası ve deniz yosunu uygulamalarından elde edilmiştir. Organik madde ilavesi yüzey alanının artırması ile daha yüksek tansiyonlarda su tutma kapasitesinin artırmaktadır (Gliński ve ark., 2011; Alaboz ve Çakmacı, 2020). Porozite arttıkça, hacim ağırlığı azalmakta, gözeneklerdeki katyonların tutulumu artmaktadır (Chaudhari ve ark., 2014). Ahır gübresi (% 86.6), vermikompost (% 86.4) ve biyogaz atığı (% 86.2) uygulamaları ile toprakların yarayışlı su içeriklerinde kontrole (% 81.2) göre artış sağlanırken diğer uygulamalarda YSİ skorları birbirine benzer bulunmuştur. Bu çalışmada organik materyal uygulamasıyla hem tarla kapasitesinin hem de solma noktasının benzer oranda düşük miktarda artması sonucu yarayışlı su içeriğindeki değişim etkili bulunmamıştır. Hacim ağırlığı skorları kontrole göre ahır gübresi, biyogaz atığı ve vermikompost uygulamalarında benzer ya da bir miktar düşük belirlenmiştir. Gül posası uygulaması ile birlikte hacim ağırlığı değeri azalmış ve skor değeri artmıştır. Hacim ağırlığı üzerinde en etkili özellik gül posası uygulaması olarak bulunmuştur. Organik materyal uygulamasıyla hacim ağırlığı değerinin düşmesi beklenirken bu uygulamalar ile beklenen düşüşler gözlenmemiştir. Bunun sebebi çalışmanın kontrollü (laboratuvar) koşullarında yürütülmemiş olması, arazi koşullarında birçok faktörün hacim ağırlığı gibi değişim aralığı dar olan özelliklerde bu etkinin gözlenmesinin zor olacağı şeklinde açıklanabilmektedir. Ayrıca uygulama dozlarının yüksek seviyelerde olmaması etkinin tam anlamıyla gözlenmesi için bir engel olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 2. Fiziksel toprak indikatörlerin üzerine uygulamaların etkisine yönelik skor dağılımı.

Kimyasal toprak indikatörlerin üzerine farklı organik gübre uygulamaların etkisine yönelik skor dağılımı Şekil 3'te verilmiştir. SMAF modelinde en yüksek ve en düşük skor değerleri K ve SAR skorlarına değerlerinde elde edilmiş olup, K skor değeri hepsinde % 100 olarak belirlenirken, SAR skoru gül posası hariç (% 80) diğer uygulamalarda aynı (% 24.6) bulunmuştur. SAR hesaplamalarında toprakların EC içerikleri dikkate alınarak skorlama yapılmakta olup gül posası uygulamaları ile toprakların EC içerikleri artmıştır. EC skor değeri de diğer uygulamalara göre daha yüksek bulunmuştur. SMAF kalite indikatörlerinin hesaplamasında Andrews ve ark. (2004)'e göre EC skorlamalarında optimum nokta en iyidir yaklaşımı bulunmakta olup saturasyon çamurunda 0.3 dS m^{-1} değeri bir eşik değer olarak belirlenmiş ve bu değer altında olan EC içeriklerinde artan EC değeriyle birlikte EC skoru artmaktadır. 0.3 dS m^{-1} ve bitki için belirlenen eşik değeri arasındaki EC içerikleri optimum nokta olarak değerlendirilmiş, daha sonra ise arttıkça azalan bir eşitlik sunulmuştur. Bu çalışmada toprakların EC içerikleri bu eşik değerinden düşük olduğu için artan EC içeriyle EC skoru artmış ve en yüksek skor gül posası uygulaması (% 72.6) ile elde edilmiştir. EC'deki artışa bağlı olarak SAR skoruda yüksek belirlenmiştir. En düşük EC skoru ise deniz yosunu (% 30.6) uygulaması ile elde edilmiştir. P ve pH kalite skorlarında ise uygulamalar arasında önemli farklılıkların olmadığı belirlenmiştir. Organik karbon kalite skor değeri kontrol ve tüm uygulamalarda yüksek olarak belirlenmesine karşın değişim en düşük kontrol (% 71.4) ve deniz yosunu (%71.0) en yüksek ise % 77.1 ile biyogaz atığında belirlenmiştir. Organik karbon skorlamalarında iklim ve tekstür önemli bir etken olup % 1.27-1.35 organik karbon içeriği için killi tın bir toprakta skorlar % 71-77 arasında değişim sergilemektedir. Biyolojik toprak indikatörlerin üzerine farklı organik gübre uygulamaların etkisine yönelik skor dağılımı yönünden ise gerek mikrobiyal biomas karbon gerekse de beta-Glukosidaz enzim aktivitesi düşük sınıf içerisinde oldukları belirlenmiştir. Kontrol ve diğer uygulamaların etkisi sonucu biyolojik toprak indikatörlerinin skorları oldukça düşük olarak belirlenmiştir. Biyolojik kalite göstergelerinden MBC % 20.3-37.7 arasında değişirken beta-Glukosidaz enzim skorları oldukça düşük seviyelerde belirlenmiştir (% 3.6-5.4). Organik materyal uygulaması ile biyolojik aktivite bir miktar artsa da bu artış beklenen düzeyde yüksek olarak belirlenmemiştir. Toprak sıcaklığı, nem, çevresel faktör gibi dinamik değişkenlerden oldukça fazla etkilenen biyolojik kalite göstergeleri, toprakların fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre de farklılıklar sergilemektedir (Kızılkaya ve ark., 2019).



Şekil 3. Kimyasal toprak indikatörlerinin üzerine uygulamaların etkisine yönelik skor dağılımı.

Farklı organik gübre uygulamalarının toprak kalite skorları ve kalite indeksi üzerine etkileri Çizelge 3 ve Şekil 4’te belirtilmiştir. Uygulamalara bağlı olarak fiziksel kalite skorları üzerine bağlı değişim istatistiksel olarak önemli seviyede bulunmamıştır. Fiziksel kalite skoru en düşük kontrol (% 79) ve biyogaz atığı uygulamasında olup diğer uygulamalarda da benzer seviyelerde belirlenmiş ve uygulanana materyallerin fiziksel özellikler üzerine etkisi önemli seviyede bulunmamıştır. Uygulama dozlarının yüksek seviyelerde olmaması kontrollü koşullar yerine arazi koşullarında uygulamaların yapılması fiziksel etkinin tam olarak yansımamasına bir sebep olarak düşünülmektedir. Ayrıca fiziksel kalite skorunun “yüksek” seviyelerde belirlenmesi uygulamaların etkisinin net olarak görülememesinin başka bir nedenidir. Gül posası uygulaması fiziksel özellikler üzerinde en etkili olan organik materyaller olarak bulunmuştur. Kimyasal kalite skoru “orta” seviyede olan toprağa gül posası uygulamaları ile “yüksek” seviyelere çıktığı çalışma ile ortaya konmuştur.

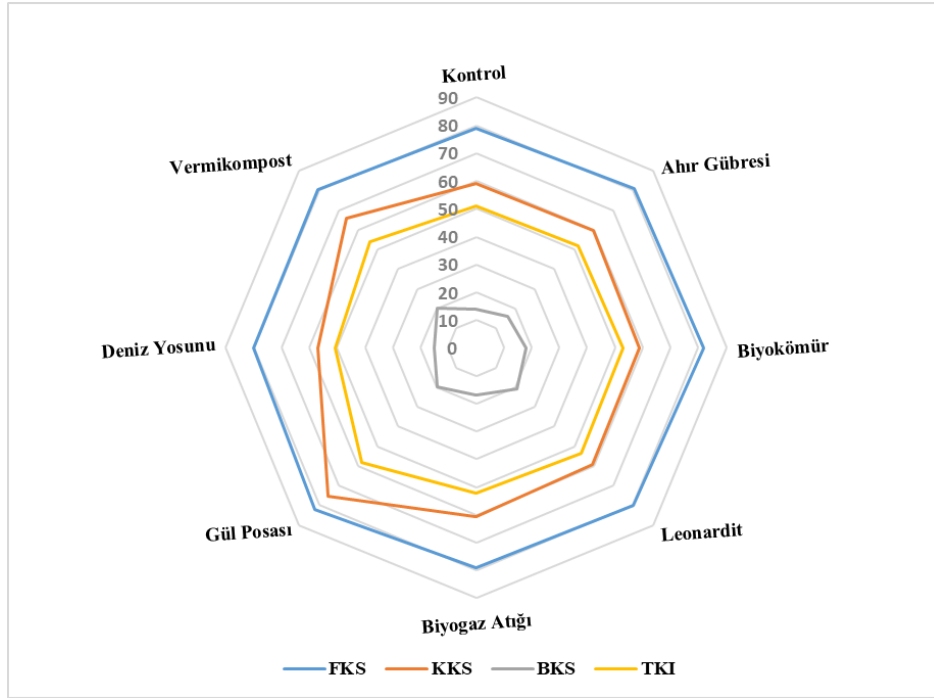
Çizelge 3. Uygulamaların toprak kalite skorları üzerine etkisi

	Fiziksel Kalite Skoru %	Kimyasal Kalite Skoru %	Biyolojik Kalite Skoru %	Toprak Kalite İndeksi %
Kontrol	79	59c*	13c*	50c*
Ahır Gübresi	81	60c	16b	52c
Biyokömür	82	59c	18b	53c
Leonardit	80	59c	21a	54bc
Biyogaz Atığı	79	61c	17b	52c
Gül Posası	83	76a	21a	60a
Deniz Yosunu	80	57c	15b	51c
Vermikompost	81	69b	20a	57b

*Uygulamalar arasındaki değişim $p < 0.01$ seviyesinde önemli bulunmuştur.

Uygulamaların kimyasal kalite skorları üzerine etkileri incelendiğinde en önemli etkinin gül posası (% 76) uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Uygulamaların etkileri istatistiksel olarak önemli seviyede değişkenlik sergilemiştir ($p < 0.01$). Gül posası uygulamalarının etkisi vermikompost’a göre farklı, daha yüksek seviyede iken ahır gübresi, biyokömür, leonardit, biyogaz atığı ve deniz yosunu uygulamaları söz konusu iki uygulamadan farklılık sergilemiştir. Kimyasal kalite üzerine en etkili

uygulamalar vermikompost ve gül posası uygulamaları olarak bulunmuştur. Bu uygulamalar kontrole göre sırasıyla % 10 ve % 17 skor değerinde artış sağlamıştır.



Şekil 4. Uygulamaların toprak kalite skorları ve kalite indeksi üzerine etkileri.

Uygulamaların biyolojik kalite skorları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli seviyede bir değişim göstermiştir ($p < 0.01$). En düşük kontrol (% 13), en yüksek ise vermikompost, gül posası (% 100) uygulamaları ile elde edilen skor değerlerindeki değişim önemli seviyede farklı bulunmuştur. Ahır gübresi, biyokömür, biyogaz atığı ve deniz yosunu uygulamaları arasındaki değişimler birbirine benzer bulunmuştur. Kontrol uygulamalarına göre organik materyal uygulaması ile pozitif yönde etki düşük seviyelerde belirlenmiştir. Gül posası ve leonardit uygulamasıyla kontrole göre biyolojik kalite de % 8 skor artışı tespit edilmiştir. Mikrobiyal ayrışma ürünleri, kil-organik kompleks oluşumunun kolaylaşmasına yol açmaktadır. Ayrıca mikrobiyal aktivitenin artması parçalanma ve ayrışma hızını arttırmaktadır (Ekberli ve Dengiz, 2016). Uygulanana materyaller incelendiğinde organik materyali en yüksek olan uygulamalardan biri gül posası olarak belirlenmiştir. C/N oranının yüksek olması parçalanma ayrışmanın daha geç olmasına neden olabilmektedir (Abak ve Sakin, 2018). Bu yüzden özellikle biyolojik aktivitenin artması daha uzun süre toprak-materyal etkileşimi sonucu gerçekleşecek olarak düşünülebilmektedir.

Toprak kalite indeksi en düşük kontrol uygulamasında belirlenmiştir (% 50). Toprak kalite indeksi üzerine en yüksek etki vermikompost (% 57) ve gül posası (% 60) uygulamalarında elde edilmiş olup bu uygulamalar ile düşük kalitede olan topraklar orta kalite seviyesine yükselmiştir. Toprak kalite indeksi üzerine leonardit, ahır gübresi, biyokömür, biyogaz atığı, deniz yosunu uygulamaları benzer değişimler sergilemiş bu değişimler istatistiksel olarak önemli belirlenmemiştir. Kontrol toprağı ile kıyaslandığında, organik materyal uygulamasıyla toprak kalite indeksi değerinde % 9'a kadar bir artış sağlanmıştır.

Organik materyal uygulamaların toprak kalitesi üzerine pozitif yönde etkisinin olduğu ortaya konulan bu çalışma literatür ile de uyumlu bulunmaktadır. Alaboz ve ark. (2021), kontrol uygulamasında düşük toprak kalitesi sınıfında belirlenen topraklar biyogaz atığı uygulamasıyla toprak kalite indeksinin arttığını belirtmiştir. Yine Müjdecı ve ark. (2020), ahır gübresi ve yeşil gübre uygulamaların toprak fiziksel özelliklerini olumlu yönde etkilediğini bildirmiştir. Alaboz ve ark. (2017), farklı dozlarda vermikompost uygulamasının toprakların fiziksel özellikler üzerinde olumlu etki yarattığını bildirmiştir.

Toprakların biyo-fizikokimyasal indikatörleri ile kalite indeksleri arasındaki korelasyon matrisleri ise Çizelge 4'te verilmiştir. Çizelge 3'te görüleceği üzere, toprakların biyo-fiziko-kimyasal indikatörleri ile fiziksel toprak kalite indeksi arasında istatistiksel olarak bir ilişki belirlenmez iken,

kimyasal toprak kalite indeksi ile EC, yarayışlı su içeriği, agregat stabilitesi arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki olduğu belirlenmiştir. Uygulamaların fiziksel toprak kalite indeksi üzerine istatistiksel olarak bir ilişki olmadığını gösterse dahi uygulama sonuçlarına ait verilerde, uygulamaların toprak fiziksel indikatörler üzerinde yapmış olduğu etkiye yönelik eğilim görülebilmektedir. İstatistiksel olarak bir ilişkinin çıkmaması, uygulama süresinin kısıllığından ya da uygulama dozundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, biyolojik toprak kalite indeksi ile yarayışlı su içeriği ve beta-Glukosidaz enzim aktivitesi arasında da istatistiksel olarak pozitif ilişki olduğu fakat Toprak Kalite İndeksinde sadece beta-Glukosidaz enzim aktivitesinin pozitif ilişkili olduğu istatistiksel olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4. Kalite indikatörleri ile toprak özellikleri arasındaki korelasyon matrisleri

İndikatörler	FTKİ	KTKİ	BTKİ	TKİ
HA-g cm ⁻³	-0.468	0.015	-0.088	-0.250
EC-dS m ⁻¹	0.193	0.602*	0.201	0.446
YSİ cm ³ cm ⁻³	0.557	0.588*	0.651*	0.553
SDGH cm ³ cm ⁻³	-0.476	0.312	0.094	-0.033
pH	0.043	-0.113	0.288	0.101
OK %	0.104	0.488	0.506	0.443
AS %	-0.191	0.646*	0.344	0.353
βg - μg p-nitrofenol gkt ⁻¹ h ⁻¹	0.535	0.517	0.677*	0.653*
K-mg kg ⁻¹	0.009	-0.093	0.195	0.078
MBK μg C gkt ⁻¹	0.175	0.518	0.532	0.548
P- mg kg ⁻¹	-0.121	0.271	0.199	0.144
SAR	0.064	0.201	-0.077	0.131

*P<0.05 HA: hacim ağırlığı, EC: elektriksel iletkenlik, YSI: yarayışlı su içeriği, SDGH: Su dolu gözenek hacmi, OK: organik karbon, AS: agregat stabilitesi, MBK: mikrobiyal biyokütle karbonu, SAR: Sodyum adsorpsiyon oranı.

4. Sonuç

Bu çalışma yarı kurak ekolojik özelliğe sahip Isparta ilinde SMAF modeli kullanılarak farklı organik materyallerin (ahır gübresi, vermikompost, leonardit, gül posası, gül posasından elde edilen biyokömür, biyogaz atığı, deniz yosunu) toprak kalite üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. SMAF toprakların fiziksel, kimyasal ve biyolojik toprak kalitesinin yanı sıra genel toprak kalitesinin ortaya konulmasında on üç adet toprak kalite indikatörü kullanılmakta bu çalışmada ise yarayışlı su içeriği, su dolu gözenek hacmi, hacim ağırlığı, agregat stabilitesi, toprak organik karbon içeriği, toprak pH'sı, elektriksel iletkenlik, sodyum adsorpsiyon oranı, bitkiye yarayışlı fosfor ve potasyum, mikrobiyal biyokütle karbonu ve beta-Glukosidaz enzim aktivitesinden oluşan on iki indikatör kullanılmıştır. Uygulanan tüm organik atıklar toprakların kalite özellikleri üzerinde olumlu etkide bulunmuş olup, orta düzeyde de olsa en düşük kalite, kontrol toprağında belirlenirken en yüksek kalite artışı gül posası ve vermikompost uygulamasında belirlenmiştir. Ayrıca ele alınan organik atıkların toprakların fiziksel, kimyasal ve biyolojik kalite özellikleri üzerine olan etkilerinin de kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında önemli artışların olduğu belirlenmiştir. Uygulanan organik materyallerin en yüksek etki kimyasal kalite göstergeleri üzerine belirlenmiştir. Çalışma alanı için biyolojik kalite göstergelerinin oldukça düşük olması uygulamalar ile birlikte beklenen artışı göstermemiştir. Bölgede toprak kalitesinin artırılmasında gül posası ve vermikompost uygulamalarına yer verilmesi sürdürülebilir arazi kullanımına oldukça önemli yer tutacaktır. Ayrıca biyolojik kalite skorlarının artırılması ile toprak kalitesinin önemli oranlarda yükseleceği bu çalışma ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla organik gübrelemeye ek olarak mikrobiyal gübrelemenin yapılması ya da anızların yakılması gibi degradasyona neden olan etkenlerin ortadan kaldırılması önerilmektedir. Çalışmada toprak fiziksel kalite skorları üzerinde organik materyalin etkisinin tam anlamıyla görülmemesi hem zaman, hem de toprak fiziksel özelliklerinin kalitesinin yüksek olması kaynaklı olarak değerlendirilmiş fiziksel kalite özellikleri daha düşük topraklarda etkinin tam anlamıyla ortaya konulabileceği değerlendirilmektedir.

Elde edilen sonuçlar göstermiştir ki, özellikle ülkemizin kurak ve yarı kurak alanlarında dağılım gösteren düşük veya orta seviyede bulunan tarım topraklarının, toprak fiziksel, kimyasal ve biyolojik toprak kalite özelliklerinin yanı sıra toplam toprak kalite indeks değerlerinin yükseltilmesinde sürdürülebilir bir toprak yönetimi için organik atık uygulamasının önemli bir yer aldığı görülmektedir. Bu işlemlerin gerçekleştirilmesinde ise SMAF modeli toprakların ekolojik ve ekonomik fonksiyonlarını yitirmeden devamlılıklarının sağlanmasına yönelik izlemelerde önemli bir araç olarak kullanılabileceği bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Kaynakça

- Abak, M., & Sakin, E., (2018). Toprakların C: N oranı ve bazı toprak özellikleri ile ilişkisi: Mardin Mazıdağı örneği. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(2), 255-261.
- Alaboz, P., & Çakmakçı, T. (2020). Kumlu tın ve killi tın toprakta kokopit uygulamasının tarla kapasitesi ve devamlı solma noktası üzerine etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(2), 285-290.
- Alaboz, P., Işıldar, A. A., Müjdeci, M., & Şenol, H. (2017). Effects of different vermicompost and soil moisture levels on pepper (*Capsicum annuum*) grown and some soil properties. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 27, 30-36.
- Alaboz, P., & Işıldar, A. A. (2018). Effects of apple and rose pulp-biochars on some physical properties of a sandy soil. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 6(2), 67-72.
- Alaboz, P., Dengiz, O., & Demir, S. (2021). Barley yield estimation performed by ANN integrated with the soil quality index modified by biogas waste application. *Zemdirbyste-Agriculture*, 108(3).
- Andrews, S. S., Karlen, D., & Cambardella, C. A. (2004). The soil management assessment framework: a quantitative soil quality evaluation method. *Soil Science Society of America Journal*, 68, 1945-1962.
- Aydın, H.R., Kural, F., Arın, A., Yaylacı, C., & Coşkan, A. (2018). Leonardit Uygulamasının Nitrifikasyon ve Nitrat Amonifikasyonu Üzerindeki Etkisi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 429-434.
- Arcak S, Kütük, A. C., Haktanır, K., & Çaycı, G. (1997). The effects of tea wastes on soil enzyme activity and nitrification. *Journal of Engineering Sciences*, 3(1), 261-266.
- Blake, G. R., & Hartge. K. H. (1986). Methods of Soil Analysis. Bulk Density, Part1. 2nd Ed. Agronomy 9. ASA and SSSA, Madison. pp. 363-375.
- Burt. R. (Ed.). (2014). Soil survey field and laboratory methods manual. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. National Soil Survey Center. Natural Resources Conservation Service. Kellog Soil Survey Laboratory.
- Chaudhari, P. R., Ahire, D. V., Chkravarty, M., & Maity, S. (2014). Electrical conductivity as a tool for determining the physical properties of Indian soils. *Int. J. Sci. Res. Publ*, 4(4).
- De la Rosa, D., Anaya-Romero, M., Diaz-Pereira, E., Heredia, N., & Shahbazi, F. (2009). Soilspecific agro- ecological strategies for sustainable land use – A case study by using MicroLEIS DSS in Sevilla Province (Spain), *Land Use Policy* 26, 1055–1065
- Dengiz, O. (2020). Soil quality index for paddy fields based on standard scoring functions and weight allocation method. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 66(3), 301-315. Doi: 10.1080/03650340.2019.1610880.
- Doran, J. W., Mielke, L. N., & Power, J. F. (1990). Microbial activity as regulated by soil water-filled pore space. In Transactions 14th International Congress of Soil Science, Kyoto, Japan, August 1990, Volume III. (pp. 94-99).
- Doran, J. W. (2002). Soil health and global sustainability: translating science into practice. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 88(2), 119-127.
- Ekberli, İ., & Dengiz, O. (2016). Bazı inceptisol ve entisol alt grup topraklarının fizikokimyasal özellikleriyle ısıl yayılım katsayısı arasındaki regresyon ilişkilerinin belirlenmesi. *Toprak Su Dergisi*, 5(2), 1-10.
- Erkossa, T., Itanna, F., & Stahr, K. (2007). Indexing soil quality: a new paradigm in soil science research. *Soil Research*, 45(2), 129-137.
- Gliński, J., Horabik, J., & Lipiec, J. (Eds.). (2011). Encyclopedia of agrophysics (pp. 264-267). Berlin, Germany: Springer.

- Gugino, B. K., Abawi, G. S., Idowu, O. J., Schindelbeck, R. R., Smith, L. L., Thies, J. E., Wolfe, D. W. & Van Es, H. M. (2009). Cornell soil health assessment training manual. Cornell University College of Agriculture and Life Sciences.
- Kemper, W. D., & Rosenau, R. C. (1986). Aggregate stability and size distribution. In: Klute A, editor. Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. Madison, WI. p 425-42.
- Kacar, B. (2009). Toprak Analizleri. Nobel Yayın Dağıtım, 467s, Ankara.
- Kızılkaya R, Dede V, Dengiz O, ., & Ay A, (2019). Ilgaz dağlarında farklı periglasyal şekiller üzerinde oluşmuş topraklara ait özelliklerin dehidrogenaz enzim aktivitesine etkisi. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 7(2), 121-127.
- Klute, A., (1986). Water Retention: Laboratory Methods. Methods of Soil Analysis. Part1. 2nd Ed. Agronomy 9. Am. Soc. Agron., 635-660, Madison.
- Kuzucu, M. (2019). Effects of organic fertilizer application on yield, soil organic matter and porosity on kilis oil olive variety under arid conditions. *Eurasian Journal of Forest Science*, 7(1), 77-83.
- Meteoroloji Genel Müdürlüğü (MGM), (2021). Erişim tarihi: 20.10.2021. <http://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/yillik-toplam-yagis-verileri.aspx#sfU>.
- Mueller, L., Schindler, U., Behrendt, A., Eulenstein, F., Dannowski, R., Schindwein, S. L., & Shepherd, T.G., (2007). Smolentseva, E., Rogasik, J., The Muencheberg Soil Quality Rating (SQR). Field Manual for Detecting and Assessing Properties and Limitations of Soils for Cropping and Grazing, Draft, Nov., 102 pp.
- Müjdeci, M., Demircioğlu, A. C., & Alaboz, P. (2020). The effects of farmyard manure and green manure applications on some soil physical properties. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(1), 9-17.
- Negiş, H., & Şeker, C. (2019). Improving soil quality card for soil sustainability in Konya, Turkey. 6th International Conference on Sustainable Agriculture and Environment October 3-5, 2019, City of Konya – Turkey. Proceedings Book, Pages 183-185.
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., & Dean, L. A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate US Dept. Agric. Cric. 939.
- Öhlinger, R. (1993). Bestimmung des Biomasse-Kohlenstoffs mittels Fumigation-Extraktion. In: Schinner, F., Öhlinger, R., Kandler, E. & Margesin, R. (eds.). Bodenbiologische Arbeitsmethoden. 2. Auflage. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg.
- Özenç, N., Özenç, D. B., & Çaycı, G. (2006). Effects of Hazelnut husk compost, peat, farmyard, and chicken manure on soil organic matter and N nutrition and hazelnut yield. 18 th international soil meeting (ism) on soil sustaining life on earth, managing soil and technology, 22-26 May, 2006, Şanlıurfa, Turkey.
- Pacci, S., Kaya, N. S., Dengiz, O., & Turan, İ. D. (2021). Van Havzası İçerisinde Yer Alan Mera Arazilerinde SMAF Modeli Kullanılarak Toprak Kalitesinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 36(2), 301-316.
- Şeker, C., Özyaytekin, H. H., Negiş, H., Gümüş, İ., Dedeoğlu, M., Atmaca, E., & Karaca, Ü. (2017). Assessment of soil quality index for wheat and sugar beet cropping systems on an entisol in Central Anatolia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(4), 135.
- Şenol, H., Alaboz, P., Demir, S., & Dengiz, O. (2020). Computational intelligence applied to soil quality index using GIS and geostatistical approaches in semiarid ecosystem. *Arabian Journal of Geosciences*, 13(23), 1-20.
- Thomas, G. W. (1982). Methods of Soil Analysis, Part 2. . Chemical and Microbiological Properties, Page, A.L., Miller, R.H. Keeney, D.R. (ed) 2nd edition. S.S.S. of America Inc. Publisher, Madison, Wisconsin pp159-164.
- Wilding, L.P. (1985). Spatial Variability: Its Documentation, Accommodation and Implication to Soil Surveys, 166-194p. In D.R. Nielsen and J. Bouma (eds.). Soil Spatial Variability: Pudoc, Wageningen, Netherlands.
- Wu, L., Jiang, Y., Zhao, F., He, X., Liu, H., & Yu, K. (2020). Increased organic fertilizer application and reduced chemical fertilizer application affect the soil properties and bacterial communities of grape rhizosphere soil. *Scientific Reports*, 10(1), 1-10.
- Van Wambeke, A.R., (2000). The newhall simulation model for estimating soil moisture and temperature regimes. Department of Crop and Soil Sciences, Cornell University, Ithaca, NY, USA.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Determination of Resistance of Some Potato Clones to *Alternaria solani*

**Özge KOYUTÜRK^{*1}, İlker POLAT², Aslı YILMAZ³, Başak ÖZYILMAZ⁴, Rahime KARATAŞ⁵
Levent YAZICI⁶, Güngör YILMAZ⁷, Yusuf YANAR⁸, Nejdet KANDEMİR⁹**

^{1,2,3,4,5}Orta Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 60250, Tokat, Türkiye

^{7,6}Yozgat Bozok Üniversitesi, 66000, Yozgat, Türkiye

⁸Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, 60010, Tokat, Türkiye

⁹Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi, 06050, Ankara, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-1648-6909>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0026-5071>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0431-6884>,
⁴<https://orcid.org/0000-0001-5982-6972>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-8724-999X>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-6839-5366>,
⁷<https://orcid.org/0000-0003-0070-5484>, ⁸<https://orcid.org/0000-0002-5795-6340>, ⁹<https://orcid.org/0000-0002-9658-2193>

*Corresponding author e-mail: ozge.koyuturk@tarimorman.gov.tr

Article Info

Received: 02.12.2021

Accepted: 18.01.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.980512

Keywords

Clone,
Detached leaf test,
Disease,
Early blight disease

Abstract: One of the most important problems in the cultivation of potato plants is their susceptibility to diseases. There are many disease agents that cause significant loss in yield and limit cultivation. One of these agents is *Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor., a facultative saprophytic fungus. The pathogen fungus causes early blight disease in potatoes. In this study, which was carried out in the field and laboratory of the Central Black Sea Transition Zone Agricultural Research Institute in 2019, the reactions of 594 clones created by crosses between some commercially registered potato varieties, local potato varieties, and some clones with superior characteristics against *A. solani* were identified using the detached leaf method. In order to determine the disease reactions, 5 mm diameter fungus discs taken from the actively growing tips of the cultures of *A. solani* isolate under sterile conditions were placed on the leaflets in five replications, and only the PDA medium was placed on the leaflets used for control purposes. As a result of the research, of the clones belonging to the A3/15 x Bafana combination, 70 were immune, 2 were tolerant, 9 were susceptible, 18 were highly susceptible. 168 of the clones belonging to the Başçiftlik Beyazı x Lady Olympia combination were immune, 1 was resistant, 4 were tolerant, 5 were susceptible, 23 were highly susceptible. 209 of the clones belonging to T5/4 x Bafana combination were immune, 2 were tolerant, 7 were sensitive and 46 were highly susceptible. Thus, in order to contribute to the development of resistant varieties, the conditions of the breeding material were revealed and evaluated as selection criteria.

To Cite: Koyutürk, Ö, Polat, İ, Yılmaz, A, Özyılmaz, B, Karataş, R, Yazıcı, L, Yılmaz, G, Yanar, Y, Kandemir N, 2022. Determination of Resistance of Some Potato Clones to *Alternaria solani*. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 33-41. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.980512>

Bazı Patates Klonlarının *Alternaria solani*'ye Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 02.12.2021
Kabul: 18.01.2022
Online yayınlanma: 15.03.2022
DOI: 10.29133/yyutbd.980512

Anahtar Kelimeler

Klon,
Koparılmış yaprak test,
Hastalık,
Erken yanıklık

Öz: Patates bitkisinin yetiştirilmesindeki en önemli sorunların başında hastalıklara olan duyarlılıkları gelmektedir. Verimde önemli derecede kayba neden olan ve yetiştiriciliği kısıtlayan birçok hastalık etmeni vardır. Bu hastalık etmenlerinden birisi de fakültatif, saprofit bir fungus olan *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor.'dır. Bu etmen patatesten erken yanıklık hastalığına neden olmaktadır. 2019 yılında Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü deneme alanı ve laboratuvarında yürütülen çalışmada, bazı ticari tescilli patates çeşitleri, yerel patates çeşitleri ve üstün özellikleri olan bazı klonlar arasında yapılan melezlemeler ile oluşturulan varyasyondan gelen 594 adet klonun *Alternaria solani*'ye karşı reaksiyonları, koparılmış yaprak yöntemi ile belirlenmiştir. Hastalık reaksiyonlarının belirlenmesi için *A. solani* izolatına ait kültürlerin aktif olarak gelişen uç kısımlarından steril koşullarda alınan 5 mm çapındaki fungus diskleri beş tekrür olacak şekilde uygulanmış ve kontrol amaçlı kullanılan yaprakçıklar üzerine sadece besi ortamı yerleştirilmiştir. Araştırma sonucunda, A3/15 x Bafana kombinasyonuna ait klonların 70'i immün, 2'si toleranslı, 9'u hassas, 18'i aşırı hassas, Başçiftlik Beyazı x Lady Olympia kombinasyonuna ait klonların 168'inin immün, 1'inin dayanıklı, 4'ünün toleranslı, 5'inin hassas, 23'ünün ise aşırı hassas, T5/4 x Bafana kombinasyonuna ait klonların 209'unun immün, 2'sinin toleranslı, 7'sinin hassas, 46'sının ise aşırı hassas olduğu tespit edilmiştir. Böylelikle dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine katkı sağlamak amacıyla ıslah materyalinin durumları ortaya konulmuş olup seleksiyon kriteri olarak değerlendirilmiştir.

1. Giriş

Dünya'da temel bitkisel gıda kaynaklarından olan patates üretim bakımından buğday, mısır ve çeltikten sonra dördüncü sırada bulunmaktadır. Ülkemiz, iklim ve toprak özellikleri yönünden patates yetiştiriciliği için oldukça önemli bir konuma sahiptir. Yumruları karbonhidratlar, proteinler, vitaminler ve de mineraller açısından oldukça zengindir. Haşlanarak veya kızartılarak taze tüketildiği gibi sanayiye konserve, dondurulmuş parmak patates, cips, püre, granül ve toz gibi formlarda işlenmekte ve pazarlanmaktadır. Bunun yanında hayvan yemi, nişasta, un, alkol ve biyoetanol yapımında da değerlendirilen bir üründür (Vanaei ve ark., 2008; Çalışkan ve Struik, 2010; Çalışkan ve ark., 2010).

Dünya genelinde FAO verilerine göre, yaklaşık 164 ülkede patates yetiştirilmekte ve 17.5 milyon ha alanda 368.1 milyon ton üretilmektedir; dekara verim ise 2 094 kg'dır (Anonim, 2020a). Ülkemizde ise TÜİK'e göre, 140 896 ha alanda, yıllık 4.9 milyon ton üretim gerçekleşmektedir; verim ise dekara 3 534 kg'dır (Anonim, 2020b).

Patatesten verimde önemli derecede kayba neden olan ve yetiştiriciliği kısıtlayan birçok hastalık etmeni vardır. Bu etmenlerinden birisi de fakültatif, saprofit bir fungus olan *Alternaria solani*'dir. *A. solani* (Ell. ve G. Martin) Sor. Deuteromycotina alt bölümüne bağlı Hyphomycetes sınıfında yer alan Hyphomycetales takımına ait bir bitki patojenidir (Döken ve ark., 2005). Ölü bitki dokularında yaşayan fungal hastalık etmeni, başta domates ve patates gibi Solanaceae familyasına ait bitkileri, sebzeleri (özellikle fasulye), süs bitkilerini (karanfil) ve meyve türlerini (elma, portakal) enfekte etmektedir (Agrios, 1988). Geniş bir konukçu yelpazesine sahip olan *Alternaria solani* etmeni ülke tarımında önemli bir yere sahip olan patatesten ekonomik düzeyde ürün kaybına neden olmakta ve mücadele yapılmadığı takdirde % 15-20'lerden % 100'e kadar çıkan ürün kaybına neden olabilmektedir (Jansky, 2000; Fry, 2008).

Üretimde kullandığımız çeşitlerin çoğunun yanıklık hastalıklarına karşı orta veya aşırı derecede duyarlı olması sebebiyle (Helgeson ve ark., 1998) verim ve kalite artışı sağlamak için kimyasal mücadele ön plana çıkmaktadır (Christ, 1991). Yoğun kimyasal kullanımının çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, hastalık etmenlerinin ilaçlara karşı direnç kazanması, gıda maddeleri üzerinde oluşankalıntılar, biyolojik dengenin bozulması gibi sebepler alternatif yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Aynı zamanda dayanıklı çeşitlerin üretilmesi ile dayanıklı gen

piramitlerinin oluşturulması önemli bir ıslah stratejisi olacaktır (Vidigal Filho ve ark., 2004; Vallejo ve Kelly, 2005; Madakbaş, 2007).

Hastalık kontrolü için dayanıklı çeşit kullanımı oldukça büyük önem taşımaktadır. *Alternaria solani*'ye karşı patates çeşitleri farklı derecelerde hassasiyet göstermekle birlikte % 100 dayanıklı (immün) çeşitler bulunmamaktadır. Fakat orta düzeylerde dayanıklılığa sahip *Solanum tuberosum* popülasyonlarının bulunduğu önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Christ, 1991; Boiteux ve ark., 1995). Bu nedenle hem Türkiye'de hem de dünyada söz konusu etmenlere karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine yönelik çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulmaktadır (Çelik, 2012).

Alternaria solani'nin kontrolü için, dayanıklı veya toleranslı çeşit kullanmak, hastalıktan arı tohumluk kullanmak, hastalıklı tarladaki bitki artıklarının yok edilmesi, üç ya da dört yıl münavebe, aşırı sulamanın önüne geçilmesi gibi kültürel önlemler alınmalıdır. Bu gereksinimden yola çıkarak dayanıklı çeşit geliştirmek amacıyla yürütmüş olduğumuz bu çalışmada, patatesten üç melez ailesine ait klonların erken yanıklık hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Bu çalışma, Bazı patates (*Solanum tuberosum* L.) genotiplerinin verim, kalite ve *Alternaria solani*'ye dayanıklılık bakımından değerlendirilmesi, TAGEM/17/A07/P04/01/02 numaralı TAGEM projesi kapsamında 2019 yılında Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü deneme alanı ve laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada melezleme ıslahı yoluyla geliştirilmiş üç kombinasyona ait 594 adet klon kullanılmıştır.

2.1. Yöntem

İnokulasyon ve hastalık reaksiyonlarının belirlenmesine ait analizler Yılmaz ve ark. (2010) ve Çelik (2012)'e göre yapılmıştır.

2.2.1. *Alternaria solani* izolatlarının elde edilmesi

Tarla koşullarında yetiştirilen patates bitkilerden alınan enfekte olmuş yaprak örnekleri %1'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda iki dakika bekletildikten sonra üç kez steril saf sudan geçirilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Enfekte olmuş ve sağlıklı dokudan oluşan yaprak parçaları %2'lik su agarı içeren petri kaplarına aktararak 20-25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Üç dört gün içerisinde gelişen kolonilerin kenar bölgesinden beş mm çaplı mantar delici ile çıkarılan misel diskleri %4'lük Patates Dekstroz Agar (PDA) içeren petrilere aktararak saf kültür elde edilmiştir. Elde edilen izolatlar 10 °C'de muhafaza edilerek çalışmada kullanılmıştır. Fungus izolatlarının makroskobik ve mikroskobik tanısı Hasenekoğlu (1991)'na göre yapılmıştır.

2.2.2. Koparılmış yaprak testi

Patates klonlarının *Alternaria solani*'ye karşı reaksiyonlarını belirlemek amacıyla hem çok sayıda klonu kısa sürede, sınırlı bir alanda testetme olanağı sağlaması ve hem de tarla denemeleriyle yüksek düzeyde korelasyon gösteren bir yöntem olduğu için Vivianne ve ark. (1999) ve Foolad ve ark. (2000) tarafından tanımlanan koparılmış yaprak testi modifiye edilerek kullanılmıştır.

Tarla koşullarında melez klonlara ait bitkilerden çiçeklenme öncesi tam olarak açılmış en uç yapraklar toplanarak soğutucu içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Bu yaprakların uçtan ilk üç yaprakçıkları (bir uç ve iki lateral yaprakçık) kopararak alt yüzleri yukarı gelecek şekilde, içerisinde steril saf su ile ıslatılmış, steril kurutma kağıdı bulunan 9 cm'lik petri kaplarına yerleştirilmiştir. Yaprak sapının uç kısmına saf su ile ıslatılmış pamuk parçaları sarılarak su kaybı önlenmiş, ayrıca yaprak ayalarının kurutma kâğıdına temas etmemesi için altlarına 0.5 cm eninde plastik halkalar yerleştirilmiştir. Her bir petriye üç yaprakçık (iki yan ve bir uç) yerleştirilerek her biri için beş tekerrür olacak şekilde uygulama yapılmıştır. Hazırlanan yaprakçıkların üzerine daha önce PDA besisi ortamında geliştirilen beş-altı günlük *A. solani* izolatına ait kültürlerin aktif olarak gelişen uç kısımlarından steril koşullarda alınan 5 mm çapındaki fungus diskleri yerleştirilmiştir.

Kontrol amaçlı kullanılan yaprakçıklar üzerine ise sadece besisi ortamı (PDA) diskleri beş tekerrür olacak şekilde yerleştirilmiştir. Örnekler 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta 20 ±2 °C de beş

gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Değerlendirmelerde kontrol çeşitlerindeki hastalık gelişmesi dikkate alınarak bu çeşitlerde lezyonlar tüm yaprakçık yüzeyini kaplayınca deneme sonlandırılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda, her bir petrideki klonlara ait yaprakçıkların yüzeyinde gelişen nekrotik alanların en ve boyları dijital kumpasla ölçülerek ortalamaları alınmak suretiyle lezyon çapları belirlenmiştir. Lezyon çapları yaprak çaplarına oranlanarak her bir yaprakçığındaki hastalık oranları hesaplanmıştır. Çalışmada hassas kontrol olarak yerel bir çeşit olan Başçiftlik Beyazı kullanılmıştır.

Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne ait Standart İlaç Deneme Metotları Kılavuzunda bulunan Patates mildiyösü hastalığı değerlendirme skalası modifiye edilerek çalışmamızda kullanılmış ve klonların reaksiyonları immün, dayanıklı, toleranslı, hassas, aşırı hassas olarak gruplandırılmıştır (Anonim, 2022) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Patates erken yanıklık hastalığı (*Alternaria solani*) değerlendirme skalası

Skala Değeri	Tanım
0 (immün)	Yaprakta hiç leke yok
1 (dayanıklı)	Yaprağın % 1-25'ine kadar lekeli
2 (toleranslı)	Yaprağın % 26-50'si lekeli
3 (hassas)	Yaprağın % 51-75'i lekeli
4 (aşırı hassas)	Yaprağın % 76 ve üzeri lekeli

3. Bulgular ve Tartışma

Seçilen klonların *Alternaria solani*'ye karşı reaksiyonları Çizelge 2, Çizelge 3 ve Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 2. A3/15 x Bafana kombinasyonuna ait klonların erken yanıklık hastalığına karşı reaksiyonları

No	İmmün				Toleranslı	Hassas	Aşırı hassas
1	A1-100	A1-83	A1-2	A1-618	A1-37	A1-212	A1-107
2	A1-11	A1-93	A1-200	A1-64	A1-179	A1-144	A1-114
3	A1-12	A1-99	A1-201	A1-65	Bafana	A1-95	A1-208
4	A1-136	A1-102	A1-215	A1-35		A1-38	A1-270
5	A1-137	A1-104	A1-219	A1-68		A1-108	A1-31
6	A1-140	A1-113	A1-220	A1-73		A1-167	A1-72
7	A1-147	A1-119	A1-221	A1-86		A1-3	A1-136
8	A1-169	A1-12	A1-24	A1-9		A1-28	A1-17
9	A1-171	A1-122	A1-245	A1-94		A1-14	A1-183
10	A1-174	A1-123	A1-248	A3-15			A1-21
11	A1-189	A1-13	A1-272				A1-217
12	A1-207	A1-131	A1-279				A1-261
13	A1-222	A1-132	A1-283				A1-274
14	A1-25	A1-143	A1-32				A1-285
15	A1-254	A1-150	A1-4				A1-67
16	A1-258	A1-151	A1-40				A1-74
17	A1-260	A1-155	A1-45				A1-89
18	A1-46	A1-176	A1-57				A1-99
19	A1-61	A1-193	A1-59				
20	A1-75	A1-195	A1-6				

Çizelge 2'de görüldüğü üzere A3/15 x Bafana kombinasyonuna ait klonların 70'i immün, 2'si toleranslı, 9'u hassas, 18'i aşırı hassas olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Başçiftlik Beyazı x Lady Olympia kombinasyonuna ait klonların erken yanıklık hastalığına karşı reaksiyonları

No	İmmün					Dayanıkl	Toleranslı	Hassas	Aşırı Hassas
1	A2-117	A2-351	A2-142	A2-466	A2-98	A2-495	A2-424	A2-222	A2-147
2	A2-118	A2-368	A2-154	A2-47	A2-1		A2-428	A2-298	A2-164
3	A2-124	A2-376	A2-154	A2-471	A2-103		A2-106	A2-535	A2-194
4	A2-129	A2-380	A2-155	A2-48	A2-113		A2-388	A2-648	A2-306
5	A2-13	A2-382	A2-162	A2-481	A2-119			A2-96	A2-310
6	A2-131	A2-406	A2-169	A2-488	A2-12			L.O.*	A2-343
7	A2-136	A2-407	A2-174	A2-5	A2-132				A2-348
8	A2-149	A2-410	A2-19	A2-510	A2-133				A2-350
9	A2-156	A2-414	A2-190	A2-513	A2-327				A2-431
10	A2-157	A2-417	A2-202	A2-53	A2-328				A2-49
11	A2-170	A2-434	A2-203	A2-391	A2-331				A2-554
12	A2-18	A2-439	A2-208	A2-415	A2-332				A2-591
13	A2-180	A2-443	A2-210	A2-425	A2-335				A2-95
14	A2-185	A2-448	A2-212	A2-426	A2-344				A2-135
15	A2-191	A2-465	A2-217	A2-430	A2-612				A2-14
16	A2-20	A2-482	A2-218	A2-436	A2-630				A2-275
17	A2-205	A2-487	A2-226	A2-437	A2-636				A2-356
18	A2-207	A2-49	A2-230	A2-44	A2-66				A2-370
19	A2-213	A2-490	A2-231	A2-449	A2-7				A2-393
20	A2-214	A2-494	A2-239	A2-453	A2-75				A2-427
21	A2-226	A2-499	A2-242	A2-547	A2-353				A2-496
22	A2-244	A2-507	A2-244	A2-556	A2-354				A2-506
23	A2-246	A2-511	A2-248	A2-557	A2-357				A2-658
24	A2-263	A2-52	A2-26	A2-587	A2-369				B.B.**
25	A2-263	A2-520	A2-269	A2-592	A2-372				
26	A2-268	A2-531	A2-286	A2-609	A2-379				
27	A2-28	A2-534	A2-29	A2-610	A2-80				
28	A2-281	A2-540	A2-3	A2-635	A2-86				
29	A2-292	A2-551	A2-303	A2-64	A2-97				
30	A2-300	A2-563	A2-304	A2-642	A2-79				
31	A2-314	A2-59	A2-312	A2-652	A2-93				
32	A2-318	A2-595	A2-326	A2-66	A2-88				
33	A2-318	A2-60	A2-329	A2-68					
34	A2-32	A2-604	A2-336	A2-76					

* Lady Olympia.

**Başçiftlik Beyazı.

Çizelge 3 incelendiğinde, Başçiftlik Beyazı x Lady Olympia kombinasyonuna ait klonların 168'inin immün, 1'inin dayanıklı, 4'ünün toleranslı, 5'inin hassas, 23'ünün ise aşırı hassas olduğu görülmektedir. Çizelge 4 incelendiğinde ise T5/4 x Bafana kombinasyonuna ait klonların 209'unun immün, 2'sinin toleranslı, 7'sinin hassas, 46'sının ise aşırı hassas olduğu görülmektedir.

Çizelge 4. T5/4 x Bafana kombinasyonuna ait klonların erken yanıklık hastalığına karşı reaksiyonları

No	İmmun					Toleranslı	Hassas	Aşırı hassas	Aşırı hassas
1	A3-1	A3-194	A3-274	A3-357	A3-471	A3-282	A3-18	A3-115	A3-627
2	A3-101	A3-198	A3-278	A3-361	A3-474	A3-434	A3-296	A3-120	A3-64
3	A3-105	A3-202	A3-279	A3-362	A3-475	Bafana	A3-454	A3-123	A3-68
4	A3-108	A3-204	A3-28	A3-364	A3-476		A3-561	A3-125	A3-79
5	A3-110	A3-206	A3-28	A3-366	A3-478		A3-565	A3-132	
6	A3-113	A3-207	A3-283	A3-376	A3-479		A3-600	A3-144	
7	A3-119	A3-209	A3-284	A3-378	A3-481		A3-611	A3-150	
8	A3-122	A3-211	A3-286	A3-379	A3-485		T5/4	A3-172	
9	A3-124	A3-212	A3-288	A3-380	A3-486			A3-199	
10	A3-128	A3-214	A3-289	A3-384	A3-497			A3-209	
11	A3-13	A3-215	A3-290	A3-385	A3-498			A3-211	
12	A3-132	A3-216	A3-291	A3-389	A3-499			A3-222	
13	A3-136	A3-218	A3-293	A3-391	A3-500			A3-224	
14	A3-136	A3-219	A3-300	A3-393	A3-506			A3-234	
15	A3-14	A3-226	A3-302	A3-395	A3-508			A3-234	
16	A3-140	A3-227	A3-303	A3-398	A3-511			A3-304	
17	A3-141	A3-228	A3-303	A3-400	A3-512			A3-317	
18	A3-145	A3-23	A3-305	A3-402	A3-514			A3-327	
19	A3-15	A3-231	A3-309	A3-417	A3-517			A3-330	
20	A3-15	A3-232	A3-310	A3-422	A3-518			A3-332	
21	A3-154	A3-236	A3-311	A3-424	A3-52			A3-336	
22	A3-161	A3-238	A3-311	A3-429	A3-520			A3-365	
23	A3-169	A3-243	A3-315	A3-44	A3-525			A3-371	
24	A3-170	A3-252	A3-316	A3-440	A3-529			A3-386	
25	A3-173	A3-253	A3-32	A3-444	A3-533			A3-409	
26	A3-175	A3-255	A3-321	A3-446	A3-535			A3-425	
27	A3-176	A3-258	A3-325	A3-448	A3-543			A3-459	
28	A3-179	A3-259	A3-328	A3-451	A3-546			A3-465	
29	A3-179	A3-260	A3-329	A3-454	A3-549			A3-472	
30	A3-181	A3-261	A3-335	A3-455	A3-549			A3-498	
31	A3-182	A3-264	A3-339	A3-458	A3-55			A3-525	
32	A3-182	A3-265	A3-344	A3-464	A3-55			A3-528	
33	A3-183	A3-269	A3-346	A3-466	A3-554			A3-531	
34	A3-184	A3-272	A3-352	A3-467	A3-555			A3-54	
35	A3-187	A3-274	A3-356	A3-470	A3-556			A3-551	
36	A3-558	A3-57	A3-592	A3-612	A3-623			A3-559	
37	A3-560	A3-575	A3-6	A3-616	A3-636			A3-578	
38	A3-564	A3-576	A3-600	A3-619	A3-66			A3-591	
39	A3-567	A3-58	A3-607	A3-62	A3-676			A3-592	
40	A3-568	A3-589	A3-610	A3-622	A3-69			A3-593	
41	A3-94	A3-74	A3-9	A3-97	A3-85			A3-604	
42	A3-95	A3-80	A3-91	A3-92				A3-606	

Çalışmamıza benzer şekilde, Christ ve Hayner (2001), farklı melez kombinasyonlarına ait 280 klonla Pennsylvania’da yürüttükleri araştırmada erken yanıklığa dayanıklılıkları açısından melez kombinasyonları içerisinde ve arasında önemli düzeyde farklılıkların olduğunu tespit etmişlerdir. Şili’de yürütülen bir dayanıklılık çalışmasında ise, 30 adet yerel patates çeşidinin geç yanıklık reaksiyonları tarla koşullarında değerlendirilmiş ve sonuç olarak UCT-34Car, UCT-26Arch ve UCT-27Mu kodlu çeşitlerin yüksek düzeyde dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya kullanılan diğer çeşitler ise orta derecede dayanıklı ve orta derecede hassas olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (Solano ve ark., 2014). Pakistan’da yürütülen bir başka çalışmada 18 patates hattından iki tanesinin (NARC-30012-96 ve FD-69-2) *P. infestans*’a dayanıklı olduğu rapor edilirken, diğer hatların orta derecede dayanıklı ve çok hassas oldukları belirtilmiştir (Mohsan ve ark., 2016). Rodriguez ve ark. (2002), yaptıkları bir çalışmada Desiree patates çeşidinden elde edilen gövde klonları, IBP10, IBP-27 ve IBP-30 patates hatlarını

Alternaria solani ile enfeksiyonuna maruz bırakmışlardır. Gövde klonlarının hassas kültür çeşidi olan Desiree'ye göre patojene daha yüksek dayanıklılık gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Santa cruz ve ark. (2009) tarafından, *Solanum phureja* x *Solanum stenotamum*, melez ailesinden seçilen en dayanıklı dört klon seçilmiş ve bunlardan tetraploid klonlar geliştirilmiştir. Geliştirilen bu klonlarda geç olgunlaşma ile erken yanıklığa dayanıklılık arasındaki ilişki incelenmiştir. Sonuç olarak, dayanıklılığı kontrol eden genlerin çoğunun geç olgunlaşma ile ilgili olmadığı, fakat dayanıklılıkta rol oynayan üç ana genin geç olgunlaşmayla ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Shahbazi ve ark. (2010), *A. solani*'ye dayanıklılığın tek bir gen tarafından kontrol edilmediğini, çoklu savunma genlerinin etkisiyle belirlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca çevresel faktörlerin, dayanıklı ve hassas çeşitler tespitinde geç olgunlaşmanın dolaylı olarak patojen büyümesini etkileyebileceği ve yabancı patates türlerinin dayanıklılık kaynakları olduğu bildirilmiştir. Pensilvanya'da, tetraploid erken yanıklık hastalığına dayanıklı dörder adet anne ve baba ebeveynin melezlenmesi sonucu oluşturulan klonlardan her melez ailesine ait 20'şer klonun erken yanıklık hastalığına karşı reaksiyonları tarla koşullarında incelenmiştir. Çalışma bulgularına göre dayanıklılığın % 95 oranında diploid ebeveynlerden tetraploid mezlelere geçebildiği tespit edilmiştir. Buradaki dayanıklılığın tek veya birkaç gen tarafından kontrol edildiği ifade edilmiştir (Christ ve ark., 2002).

Diğer bir çalışmada, Çelik (2012) tarafından bazı patates klonlarının *Alternaria solani*'ye karşı duyarlılıkları koparılmış yaprak testi yöntemi ile tespit edilmiştir. Çalışma sonunda 224 klondan 116 tanesi semptom oluşturmayarak hastalığa karşı yüksek düzeyde dayanıklı bulunmuştur. MF-1 X TS-4 melez ailesine ait A2/11 ve A2/132 numaralı klonlar aşırı duyarlı bulunurken, A2/120, A2/179 ve A2/109 nolu klonlar % 100 dayanıklı bulunmuştur. Benzer şekilde Serrana x TS-9 melez ailesine ait A3/20, A3/303, A3/117, T3/36 ve A3/55 numaralı klonlar aşırı duyarlı bulunurken, A3/4, A3/66, A3/74 ve A3/284 numaralı klonlar % 100 dayanıklı bulunmuştur. Hassas kontrol olarak kullanılan çeşitler patojene aşırı duyarlılık göstermiştir.

Nachmias ve ark. (1988) yürüttükleri bir çalışmada, sonbahar ve ilkbahar mevsimlerinde üç yıl boyunca bazı klonların *Alternaria solani*'ye karşı tepkilerini araştırmış, her iki mevsimde hastalık görülse de ilkbaharda hastalık şiddetinin daha yüksek olduğunu tespit etmiş, üretici açısından ciddi verim kayıplarına sebep olduğu için dirençli ya da toleranslı hatların kullanımının avantajları ve uygun tarama tekniklerine ihtiyaç bulunduğunu bildirmişlerdir.

4. Sonuç

Yürütülen bu çalışmada incelenen patates klonlarından, hastalığa karşı dayanıklı, toleranslı, immün reaksiyon gösterenlerin dayanıklılık ıslahı çalışmalarında gen kaynağı olarak kullanılabilir, A3/15 x Bafana kombinasyonundan 29 adet immün, 2 adet toleranslı; Başçiftlik Beyazı x Lady Olympia'dan 134 immün, bir dayanıklı, dört adet toleranslı klon; T5/4 x Bafana kombinasyonunda ise 209 immün, 2 adet toleranslı klon olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, bu etmenle mücadelede, üretimde dayanıklı çeşitlerinin kullanımının kimyasal mücadeleye alternatif, daha ekonomik ve çevre dostu bir seçenek olarak önemle üzerinde durulması gerekmektedir. Bu çalışmada tespit edilen klonlar hem gen kaynağı hem de dayanıklı çeşit geliştirmeye yönelik çeşit adayları olarak kullanılabilir.

Kaynakça

- Anonim, (2020a). Food and Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/home/en/>.
- Anonim, (2020b). Türkiye İstatistik Kurumu, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>.
- Anonim, (2022). TC. Tarım ve Orman Bakanlığı, <http://www.tarimorman.gov.tr>.
- Agrios, G. N. (1988). Plant Pathology, *Academic Press Ltd* 24-28, London NW1, 7DX, 803.
- Boiteux, L.S., Reifschneider F.J.B., Fonseca, M.E.N. & Buso J.A. (1995). Search for sources of early blight field resistance not associated with vegetative late maturity in tetraploid potato germplasm. *Euphytica* 83:63-70.
- Christ, B.J. (1991). Effect of disease assessment method on ranking potato cultivars for resistance to early blight. *Plant Disease* 75: 353-356.
- Christ, B.J., Haynes, K.G. & Vinyard, B.T. (2002). Inheritance of early blight resistance from open-pollinated 4x-2x potato hybrids. *American Journal of Potato Research* 79: 403-410.

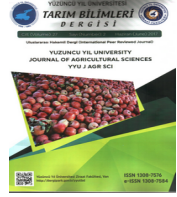
- Christ, B.J. & Haynes K.G. (2001). Inheritance of resistance to early blight disease in a diploid potato population. *Plant Breeding* 120:169–172
- Çalışkan, M.E. & Struik, P.C. (2010). Preface to special issue. *Potato Research* 53(4), 253-254.
- Çalışkan, M.E., Onaran, H. & Arıoğlu, H. (2010). Overview of the Turkish potato sector: Challenges, achievements and expectations. *Potato Research* 53: 255-266.
- Çelik, T. (2012). Bazı patates klonlarının erken yanıklık hastalık etmeni *Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor.'ye karşı reaksiyonlarının belirlenmesi, Gaziosmanpaşa Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. (Danışman: Prof. Dr. Yusuf YANAR)
- Döken, M., T., Demirci, E. & Zengin, H. (2005). Fitopatoloji (Beşinci Baskı). Atatürk Üniv. Zir. Fak., Erzurum.
- Fry, W.E. (2008). *Phytophthora infestans* the Plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology* 9: 385-402.
- Foolad, M. R., Ntahimpera, N., Christ, B. J. & Lin, G. Y. (2000). Comparison of field, greenhouse, and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for early blight resistance. *Plant Disease* 84:967-972.
- Hasenekoğlu, İ. (1991). Soil Microfungi (In Turkish), Atatürk Üniv. Yayınları, No: 689. Kazımkarabekir Eğitim Fakültesi Yayınları, Erzurum, 11:1-7.
- Helgeson, J.P., Pohlman, J.D., Austin, S., Haberlach, G.T., Wielgus, S.M., Ronis, D., Zambolin, L., Tooley, P., Mc grath, J.M., James, R.V. & Stevenson, W.R. (1998). Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: A new source of resistance to late blight. *Theor Appl. Genetics* 96: 738-742.
- Jansky, S.H. (2000). Breeding for disease resistance in potato. *Plant Breeding Review* 19:69-155.
- Nachmias, A., Caligari, R.D.S., Mackay, G.R. & Livescu L. (1988). The effects of *Alternaria solani* and *Verticillium dahliae* on potatoes growing in Israel. Gilat regional experiment station, Israel. Scottish Crop Research Institute, Pentlandfield, Scotland. *Potato Research* 31,443-450.
- Madakbaş, S.Y., Hiz, M.C., Gültekin, Y. & Sayar, M.T. (2009). STS/SCAR belirteçler kullanılarak taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) hat ve çeşitlerinde antraknoza (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc&Magnus) Lambs. Scrib) dayanıklılık genlerinin tespiti üzerine araştırmalar. XVI. Biyoteknoloji Kongresi, 13-16 Aralık 2009, Antalya, 162-166.
- Mohsan, M., Mustafa, A., Akhtar, S., Iqbal, M., Saeed, S., Niaz, M.Z. & Bashir, M.R. (2016). Screening of potato germplasm against late blight disease. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci* 3(8):200-204.
- Rodriguez, M.A.D., Brommonschenkel, S.H., Matsuoka, K. & Mizubuti, S.G. (2006). Component of resistance to early blight in four potato cultivars: Effect of leaf position. *J. Phytopathol* 154: 230-235.
- Santa Cruz, J.H., Haynes, K.G. & Christ, B.J., 2009. Effects of one cycle of recurrent selection for early blight resistance in a diploid hybrid *Solanum phureja*-*Solanum stenotomum* population. *American Journal of Potato Research* 86: 490-498.
- Shahbazi, H., Aminian, H., Sahebani, N. & Halterman, D.A. (2010). Biochemical evaluation of resistance responses of potato to different isolates of *Alternaria solani*. Department of plant protection, Aboryhan Campus, Tehran University, P.O. Box 33955-159, Tehran, Iran.
- Solano, J., Acuña, I., Esnault, F. & Brabant, P. (2014). Resistance to *Phytophthora infestans*'ın *Solanum tuberosum* landraces in Southern Chile. *Tropical Plant Pathology* 39(4):307-315.
- Vallejo, V. & Kelly, J. D. (2005). Initial dissection of the anthracnose resistance in the landrace cultivar G 2338. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop* 48:76-77.
- Vanaei, H., Kahrizi, D., Chaichi, M., Shabani, G. & Zarafshani K., 2008. Effect of genotype, substrate combination and pot size on minituber yield in potato (*Solanum tuberosum* L.). *American-Eurasian J.Agric. & Environ. Science* 3(6), 818-821.
- Vidigal filho, P. S., Gonçalves-vidigal, M. C., Kelly, J. D. & Kirk, W.W. (2004). Sources of resistance to anthracnose in traditional common bean cultivars from Parana, Brazil. *Annu. Rpt. Bean Improvement Coop* 47:53-54.
- Vivianne, G.A., Vleeshouwers, A., Willem Van Dooijeweert, L.C., Keizer, P., Sijpkens, L., Govers, F. & Colon, L.T. (1999). A laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various solanum species reflects the field situation. *European Journal of Plant Pathology* 105: 241-250.

Yılmaz, G., Kandemir, N. & Yanar, Y. (2010). TÜBİTAK-TOVAG 106 O 626 numaralı Bazı patates melezlerinden yeni klonların seçimi ve Başçiftlik yerel patates çeşidinin moleküler karakterizasyonu projesi, Sonuç Raporu.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Storage of Yoghurt Powder Obtained by Different Drying Methods and Its Use in Reconstituted Ayran Production

Özlem SOYSONA AR^{*1}, Elvan OCAK²

^{1,2}Van Yuzuncu Yil Universty, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Van, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-8014-4455>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4565-2435>

*Corresponding author e-mail: ozlem_sysn@hotmail.com

Article Info

Received: 20.02.2021

Accepted: 02.02.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.879612

Keywords

Convencional,
Lyophilized,
Reconstituted ayran,
Yoghurt powder

Abstract: In this study; yoghurt powder was produced using the conventional and lyophilized methods. Half of the yoghurt powders were stored in plastic Ayran packages, with the addition of 0.5 % salt for reconstituted ayran production. The samples were analyzed as powder and reconstituted Ayran on the 1st, 15th, 30th, 60th, and 90th days. In addition, Ayran that was reconstituted on the 1st day was stored at +4 °C until the 15th day, and the changes following dilution were examined. It has been observed that lyophilized yogurt powder gives better results in terms of physical, chemical, and microbiological properties during 90 days of storage, and its sensory properties are more appreciated and preferable when consumed as reconstituted Ayran. When the Ayran samples were stored in reconstituted form until the 15th day, it was found that the pH value of all samples decreased, serum separation and acidity increased, and sensory properties decreased. As a result, it has been concluded that it is possible to convert yogurt into yogurt powder in the specified ways, to pack it in a practical way for ayran production, to have a long shelf life, and to be reconstituted even after months if desired.

To Cite: Soysona Ar, Ö, Ocak, E, 2022. Storage of Yoghurt Powder Obtained by Different Drying Methods and Its Use in Reconstituted Ayran Production. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 42-56. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.879612>

Farklı Kurutma Yöntemleriyle Elde Edilen Yoğurt Tozunun Depolanması ve Rekonstitüe Ayran Üretiminde Kullanımı

Makale Bilgileri

Geliş: 20.02.2021

Kabul: 02.02.2022

Online yayınlama: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.879612

Anahtar Kelimeler

Konveksiyonel,
Liyofilize,
Rekonstitüe ayran,
Yoğurt tozu

Öz: Bu çalışmada; konveksiyonel ve liyofilize olmak üzere iki farklı yöntemle yoğurt tozu üretilmiştir. Elde edilen tozların yarısı toz olarak yarısı da rekonstitüe ayran üretimi için içerisine % 0.5 tuz eklenerek ağızları alüminyum varaklı 100 ml'lik plastik ayran ambalajlarında +4 °C'de depolanmıştır. Depolamanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde hem toz olarak hem de rekonstitüe ayran üretilerek fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal analizlere tabi tutulmuşlardır. Ayrıca 1. gün analizleri için rekonstitüe edilen ayranlar 15. güne kadar +4 °C'de depolanıp ayranların rekonstitüe edildikten sonraki dayanım süresi ve göstermiş olduğu değişimler araştırılmıştır. 90 günlük depolama süresince liyofilize yöntem kullanılarak üretilen yoğurt tozunun fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler açısından daha iyi sonuçlar verdiği ve rekonstitüe ayran olarak tüketiminde duyuşsal özelliklerinin daha çok beğenildiği ve tercih edilebilirliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayran örnekleri rekonstitüe halde 15. güne

kadar depolandığında ise hem konveksiyonel hem de liyofilize örneklerde pH değerinin düştüğü, asitlik ve serum ayrılması değerinin arttığı, duyu özelliklerinin azaldığı ve tat- aroma kayıplarının meydana geldiği tespit edilmiştir. Elde edilen tüm bulgulardan hareketle yoğurdun belirtilen şekillerde yoğurt tozuna dönüştürülmesi ve ayran üretimi için pratik bir şekilde ambalajlanması, uzun bir raf ömrüne sahip olması ve istenildiğinde aylar sonra bile rekonstitüe edilerek tüketiminin sağlanmasının mümkün olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Dipnot: Bu çalışma Özlem SOYSANA AR'ın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

1. Giriş

İnsan yaşamındaki öneminden dolayı, süt ve süt ürünleri, gıda endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Bu ürünlerden biri olan yoğurt, tarihi binlerce yıl öncesine dayanan ve en çok tercih edilen süt ürünlerinden biridir. Yoğurt, sütlerin pastörizasyon ve homojenizasyon işlemlerinden sonra *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*'dan oluşan yoğurt starter kültürlerinin ilave edilmesiyle Yoğurt Yapım Kuralları Standardı'na uygun işlemlerden sonra elde edilen mamuldür (Anonim, 2008).

Süte kıyasla raf ömrü biraz daha uzun olan yoğurt yine de kısa süre içinde tat ve aromasında değişimler görülerek bozulmaktadır. Yoğurdun raf ömrü 25-30 °C'de 1 gün, 7 °C'de 5 gün ve 4 °C'de 10 gündür (Kumar ve Mishra, 2004a). Yoğurdun raf ömrünün kısalığı ticari anlamda yoğurt endüstrisinin en önemli dezavantajıdır.

Kurutma terimi gıda maddesindeki nemin uzaklaştırılması anlamını taşımaktadır. Kurutma ile gıdanın nem seviyesi mikroorganizma gelişimini engelleyecek düzeye düşürülmektedir. Bu özellikleriyle kurutma, çok çeşitli ürünler için en kolay ve genel gıda muhafaza yöntemidir. Kurutulmuş gıdalar taze ürün pazarına etkili bir alternatif olmuşlardır (Kumar ve Mishra, 2004a; Akın, 2006). Gelişen teknolojilerle birlikte gıdaların farklı yollarla kurutulması yaygınlık kazanmış olup kullanımı ve uygulaması dünyada her geçen gün daha fazla uygulanmakta olan bir işlem haline gelmiştir (Ergün, 2012). Özellikle hazır ve kolay tüketilebilir gıdaların talebi paralelinde sağlıklı beslenmenin de ön planda olduğu günümüzde değişen tüketici istekleri de dikkate alınarak, gıda sanayi son birkaç yıl içerisinde toz hazır gıda ürünleri üzerinde inovatif çalışmalar ve atılımlar gerçekleştirmiştir. Değişen hızlı yaşam koşullarıyla beraber tüketicinin beklentisi tek bir üründen ihtiyacı olan bütün gereksinimlerini karşılamasıyla, üretici üretmiş olduğu ürünün uzun süre bozulmadan depolanmasını ve nakliyat giderlerinin azalmasını istemektedirler. Bu sebepler de gıda üretici ve tüketicilerini toz karışımlara yöneltebilir (Koç, 2008; Saçkesen ve Ocak 2019).

Yoğurdun raf ömrünü uzatmak için uygulanan en önemli yöntem kurutmadır. Yoğurdun kurutulmasının amacı, raf ömrü uzun, stabil, soğutma ihtiyacı olmadan ve istenildiği zaman kullanım kolaylığı olan bir ürün elde etmektir. Yoğurdun dayanımının artırılması amacıyla farklı yöntemlerle suyu uzaklaştırılarak daha konsantre bir ürün olan torba ya da süzme yoğurtlar elde edilir. Bu konsantre yoğurtların raf ömrü 7 °C'nin altında depolandığında 30-35 güne kadar çıkabilmektedir. İran ve Türkiye'de de geleneksel olarak halen uygulanmakta olan kurutma yöntemi ile elde edilen kurutun dayanımı da uygun koşullarda 1 yıla kadar uzayabilmektedir. Ülkemizde bölgesel olarak yoğurdun raf ömrünü uzatmak amacıyla suyunun süzülerek uzaklaştırılması (süzme yoğurt), güneşte kurutma (kurut) gibi çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte endüstriyel olarak yoğurt tozu üretimi de yapılmaktadır. Yoğurdu kurutmak amacıyla, dondurarak kurutma, püskürtmeli kurutma, direkt güneş ışığı altında kurutma, mikrodalga kurutma ve konveksiyonel kurutma gibi yöntemler uygulanmaktadır. Yoğurttan bu gibi yöntemler kullanılarak elde edilen yoğurt tozu; soğuk depolama zorunluluğu olmadan istenilen zamanda kullanım kolaylığı sağlayan ve raf ömrü 1-2 yıl arasında değişen yeni bir ürüne dönüşmektedir. Yoğurt tozu yoğurda oranla daha düşük paketleme ve depolama maliyetine sahiptir. Uygulanan kurutma işlemi sayesinde yoğurdun hacmi azalmakta, depolanması ve taşınması kolaylaşmaktadır. Böylece yoğurt tozu; yoğurdun depolanmasının zor olduğu sıcak bölgelerde, açlık ve protein eksikliğinin görüldüğü gelişmekte olan ülkeler için iyi bir besleyici alternatif haline gelmektedir (Kumar ve Mishra, 2004a; Kumar ve Mishra, 2004b; Koç, 2008; Nalchi, 2014).

Yoğurt tozu su ilave edilerek direkt yoğurt olarak kullanılabilir gibi, su ilavesi ile geleneksel içeceğimiz olan ayrana dönüştürülerek de tüketilebilmektedir. Ayrıca Yoğurt tozu taze yoğurdun yerine; fırın ürünlerinde (bisküvi, kraker, kek, çıtır ekmek), meyve sularında, hazır toz çorba karışımlarında,

bitter çikolatalarda, yoğurt aromalı şeker ve tatlılarda, dondurmalarda ve dondurma külahlarında, protein zenginleştirici olarak birçok gıda ürününde, soslarda, sosislerde, bebek mamalarında, kozmetik ürünlerinde (krem, maske vb.) kullanılmaktadır (Koç, 2008). Yoğurt tozu starter kültür ve evlerde kara maya olarak da kullanılabilir.

Yoğurt benzeri bir ürün olan ayran, yoğurdun sulandırılmasıyla üretilen bir içecektir. Zengin vitamin içeriği bakımından oldukça faydalı bir fermente üründür. Sütün önemli ürünlerinden olan ve uzun yıllardan beri Orta Asya ve Anadolu'da işlenen ayran, özellikle Türk toplumunun beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Özellikle yaz aylarında üretimi artan ve aşırı sıcaklarda vücudun ter yoluyla kaybettiği sıvının geri kazanılmasında önemli rol oynayan ayran, içerdiği sodyum ve klorür iyonları ile vücudun sıvı dengesinin korunmasını sağlar. Sindiriminin kolaylığı ve ferahlatıcı etkisi açısından da gerek şehirlerde gerekse kırsal kesimlerde oldukça fazla miktarda tüketilen bir içecek olmuştur (Gülmez ve Güven, 2003; Köksoy ve Kılıç, 2003).

Ayran üretimi süt veya direkt yoğurtla yapılabildiği gibi yoğurt tozunun sulandırılmasıyla da üretilebilir. Türkiye'de sevilerek tüketilen yoğurdun toz haline getirilmesi ile dayanımının artırılması, depolama ve taşınmasının kolaylaştırılması, pratik kullanım kolaylığının sağlanması gibi avantajlarının yanında geleneksel içeceğimiz olan ayrana da dönüştürülmesiyle hem üreticiler hem de tüketiciler için büyük avantajlar sağlayabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizde ayran tüketimi bu kadar yaygın iken depolanma zorunluluğu ve raf ömrü kısıtlaması olmayan, istenildiğinde kolay ulaşılabilir, kolay taşınabilir bir ayran, tüketici isteklerinin başında gelmektedir. Bu bağlamda yapılan çalışmada 2 farklı yöntemle (konveksiyonel ve liyofilize) yoğurt tozu üretilmiştir. Bu yoğurt tozları depolama periyodu boyunca hem toz olarak hem de rekonstitüe ayran olarak fiziksel kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal incelemeye tabi tutulmuştur. Bu şekilde yoğurdun toz olarak uzun süre saklanabilmesi, gıda alanında farklı üretimlerde toz formunda kullanılabileceği gibi istendiğinde tekrar yoğurda ve ayrana dönüştürülebilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca uygun saklama yöntemiyle dayanımının artırılması, depolama ve taşınmasının kolaylaştırılması ve kullanım alanlarının genişletilerek (günlük kullanım, seyahat, askeri operasyonlar, afet alanları vb.) tüketiminin artırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

İki tekerrürlü olarak yürütülen bu çalışmada yoğurt üretiminde materyal olarak, Süt-Kur Gıda San. ve Tic. Şti tarafından temin edilen ve analizleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü pilot süt işletmesinde yapılan çiğ inek sütü kullanılmıştır. Yoğurt üretimi Süt-Kur süt işletmesinde gerçekleştirilmiş olup işlenen yoğurtlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü pilot süt işletmesine getirilerek analizleri yapıp yoğurt tozuna işlenmiştir. Dondurarak kurutma cihazı olarak Labconco (ABD) marka liyofilizatör cihazı, konveksiyonel kurutma cihazı olarak Öztiryakiler (Türkiye) markalı konveksiyonel fırın, ambalaj materyali olarak ağız kısmı otomatik ambalajlama makinesinde alüminyum varakla kapatılan 100 ml'lik polipropilen ambalaj ve üretilen yoğurt tozlarının öğütülmesi için öğütücü olarak ARNİCA (Türkiye) markalı kahve öğütme makinesi kullanılmıştır.

2.1.1. Yoğurt tozu üretimi

Taze yoğurdun bir kısmı konveksiyonel yöntem ile yoğurt tozu üretimi için altına yağlı pişirme kağıdı serilmiş 32x53 cm ebadındaki fırın tepsilerine 3 mm kalınlığında serilerek 60 °C'de 8 saat süreyle kurutulmuştur.

Taze yoğurdun diğer kısmı liyofilize yoğurt tozu üretimi için 100 ml'lik plastik kaplara dolun yapılarak -18 °C'de bir gece ön dondurma işlemine tabi tutulmuştur. Ön dondurma işleminin ardından liyofilizatör cihazına yerleştirilen yoğurt örnekleri -55 °C'de 0.005 Torr iç basınç ile 96 saat süreyle kurutulmuştur.

Kurutulan yoğurt, homojen bir görüntü elde etmek ve partikül boyutunu küçültmek için öğütme işlemine tabi tutulduktan sonra yoğurt tozu elde edilmiştir. Konveksiyonel ve liyofilize yöntemle elde edilen her bir yoğurt tozu örneği iki kısma ayrılmıştır. Birinci kısım toz olarak ikinci kısım ise içerisine % 0.5 tuz eklenerek ağız kısmı otomatik ambalajlama makinesinde alüminyum varakla kapatılan 100

ml'lik polipropilen ambalaj içerisinde 1., 15., 30., 60., ve 90. günlerde analiz edilmek üzere +4 °C' de depolanmıştır.

Yoğurt tozu üretiminde kullanılan taze yoğurdun kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Yoğurt tozu üretiminde kullanılan yoğurdun bileşim özellikleri

Analiz	Yoğurt
pH	4.56±0.01
Titrasyon Asitliği (% Laktik asit)	1.00±0.05
Kurumadde (%)	14.21±0.01
Yağ (%)	3.50±0.03
Protein (%)	4.34±0.07
Mikrobiyoloji (log KOB/g)	
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	7.21±0.04
<i>Streptococcus thermophilus</i>	7.58±0.15

2.1.3. Yoğurt tozundan rekonstitüe ayran üretimi

İçerisine % 0.5 oranında tuz eklenerek +4 °C'de depolanan yoğurt tozları belirlenen depolama günlerinde gerekli kuru madde ayarlamaları yapılarak (ortalama % 11.64) karıştırıldıktan sonra rekonstitüe ayrana dönüştürülmüş ve belirlenen analizler yapılmıştır. Rekonstitüe ayranların karıştırılması için Heidolph Silentcrusher M (Almanya) markalı karıştırıcı kullanılmıştır. Karıştırma işlemi 15 bin devirde 3 dakika olarak belirlenmiştir. 1. gün analizleri için rekonstitüe edilen ayranların rekonstitüe edildikten sonra gösterdiği değişimi ve raf ömrünü belirlemek için 15. güne kadar +4 °C'de depolanmış, kontrol örnekleri olarak değerlendirilmiş ve belirlenen analizler yapılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Kimyasal analizler

Yoğurt tozunda ve rekonstitüe ayranlarda pH değeri dijital pH metre ile ölçülmüştür. Yoğurt tozunun pH ölçümü için tozlar belirlenen her bir depolama periyodunda rekonstitüe ayrana dönüştürülüp ölçüm yapılmıştır. Asitlik tayini TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardı (Anonim, 1994)'e, kuru madde ve toplam azot miktarı AOAC (1990)'a, yağ tayini Kurt ve ark (2003)'e göre yapılmıştır.

2.2.2. Fiziksel analizler

Yoğurt tozunda ve rekonstitüe ayranlarda renk değerleri Minolta CR-400 cihazı ile, serum ayrılması değerleri Özünlü (2005)'e viskozite değerleri Brookfield Dv-III Ultra Programmable Rheometer kullanılarak ölçülmüştür.

Yoğurt tozunda çözünürlük analizi, IDF 129A'ya (Anonim, 1988) göre yapılmıştır. 13 g toz örnek tartılmış ve üzerine 25 °C'de 100 ml damıtık su eklenmiştir. Köpürmeyi önlemek amacıyla 2-3 damla amil alkol damlatılmıştır. Karışım bir bağıt ile 90 saniye karıştırıldıktan sonra 15 saniye bekletilmiştir. Daha sonra alt kısmı konik şekilli ve ölçülü santrifüj tüplerine 50 ml aktarılmış ve 1100 dev/dak'da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Çökelti kısmına dokunmadan çökelti kısmına yüzeyden yaklaşık 5 ml kalıncaya kadar sıvı kısım bir sifon yardımıyla boşaltılmış, dipte kalan çökelti karıştırılarak üzerine 25°C'de 25 ml damıtık su eklenmiş, karıştırılmış ve 50 ml'ye tamamlanarak tekrar 1100 dev/dak'da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan tüplerin çökelti seviyesi (Ç) okunmuştur. Örneklerin çözünebilirlik oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Eş.1).

$$\text{Çözünebilirlik oranı (\%)} = 100 - 2\text{Ç} \quad (1)$$

Yoğurt tozunda dağılılırlik ve ıslanabilirlik analizleri FIL-IDF:87'ye (Anonim, 1979) göre yapılmıştır. Yoğurt tozunda dağılılırlik analizi için, 13 g toz örnek tartılmış ve 25 °C'de 100 ml su içerisine 2.5 s içerisnde tamamen boşaltılmıştır. Bu aşamada kronometre çalıştırılmış ve 20 s içerisnde 20 dairesel hareket yapıldıktan sonra karıştırmaya son verilmiştir. Tüm topakçıklar tamamen eridiğinde, kronometre durdurulmuş ve sonuç, saniye cinsinden geçen süre olarak kaydedilmiştir.

Yoğurt tozunda ıslanabilirlik analizi için, 13 g toz örnek tartılmış ve 25 °C’de 100 ml su içerisinde 2.5 s içerisinde tamamen boşaltılmıştır. Bu aşamada kronometre çalıştırılmış ve tüm partiküller tamamen battığında kronometre durdurulmuş ve sonuç, saniye cinsinden geçen süre olarak kaydedilmiştir.

2.2.3. Mikrobiyolojik analizler

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, *Streptococcus thermophilus*, Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve Toplam maya- küf sayımı TS ISO 7889 (Anonim, 2004) standardına göre yapılmıştır. Dökme plak yöntemi kullanılmış olup koloni sayımı sonucu, “koloni oluşturma birimi/g kurumadde” (KOB/g KM) olarak belirlenmiştir. Yoğurt tozları rehidre edilmeden direk 1 gram örnek alınarak seyreltme işlemi yapılmıştır.

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus sayımı için MRS agara ekim yapıldıktan sonra 37 °C’de 72 saat anaerobik ortamda inkübe edilerek belirlenmiştir. Petrilerde gelişen tüm koloniler *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* olarak değerlendirilmiştir.

Streptococcus thermophilus sayımı için M-17 agara ekim yapıldıktan sonra 37 °C’de 48 saat inkübe edilerek belirlenmiştir. Petrilerde gelişen tüm koloniler *Streptococcus thermophilus* olarak değerlendirilmiştir.

Toplam mezofilik bakterilerin sayısı PCA besiyerine ekim yapıldıktan sonra 37 °C’de 48 saat inkübe edilerek belirlenmiştir. Petrilerde gelişen tüm koloniler mezofilik bakteri olarak değerlendirilmiştir.

Maya-küf sayımı için sterilize PDA besiyeri pH 3.5’a kadar asitlendirilerek ekim yapılmış ve 25 °C’de 5 gün inkübe edilerek belirlenmiştir. Petrilerde gelişen tüm koloniler Maya-küf olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4. Duyusal analizler

Rekonstitüe ayran örneklerinin duyusal analizi 25-50 yaş aralığı 5 kişilik deneyimli panelist grubu tarafından belirlenen periyotlarda yapılmıştır. Duyusal analizler için 5 puanlık skalada örneklerin görünüş, kıvam, tat, koku, renk ve genel beğenirlikleri değerlendirilmiştir. Tadım aralarında panelistlere su verilmiştir.

2.2.5. İstatistiksel analizler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizinde, SAS 9.4 paket programı kullanılmıştır. Gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde genel doğrusal model (GLM) analizi yapılmış, ikiden fazla olan gruplar arasındaki farklılıkların önemli olup-olmadığının belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır. Duyusal analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde parametrik olmayan iki yönlü varyans analizi kullanılarak, renk, görünüş, koku, tat ve genel beğeni grupları arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (SAS, 2014).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Yoğurt tozlarında saptanan özellikler

3.1.1. Kimyasal özellikler

Konveksiyonel (K) ve Liyofilize (L) olmak üzere iki farklı yöntemle üretilen yoğurt tozlarında saptanan pH, asitlik, kurumadde, yağ ve protein değerleri istatistiksel olarak değerlendirilip Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2’den yoğurt tozlarının pH değerleri incelendiğinde; depolama periyoduna göre örneklerin pH değerlerinde bir azalış söz konusu olsa da bu azalış istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Fakat yoğurt tozu üretim yönteminin pH değerleri arasında meydana getirdiği farklılık örnekler arasında önemli tespit edilmiştir. Örneklerin pH değerleri arasındaki farklılığın K örneğinin üretim yöntemindeki yüksek sıcaklık ve sürenin etkisiyle meydana gelen asitlik artışına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 2. Depolama süreci boyunca yoğurt tozlarında saptanan kimyasal özellikler

Analiz	Örnek	Depolama Periyodu (Gün)				
		1	15	30	60	90
pH	K	3.96±0.01 ^{B,a}	3.96±0.04 ^{B,a}	3,94± 0,01 ^{B,a}	3.91± 0,04 ^{B,a}	3.89±0.01 ^{B,a}
	L	4.48±0.02 ^{A,a}	4.47 ± 0,00 ^{A,a}	4.45 ± 0.03 ^{A,a}	4.43 ± 0.02 ^{A,a}	4.40 ±0.05 ^{A,a}
Asitlik (%)	K	8.84±0.28 ^{A,a}	8.89±0.04 ^{A,a}	9.09±0.02 ^{A,a}	9.26±0.07 ^{A,a}	9.47± 0.03 ^{A,a}
	L	8.23± 0.04 ^{B,a}	8.31± 0.07 ^{B,a}	8.52±0.04 ^{B,a}	8.61±0.04 ^{B,a}	8.79± 0.06 ^{B,a}
Kurumadde (%)	K	95.56±0.13 ^{A,a}	95.38±0.02 ^{A,a}	95.72±0.03 ^{A,a}	95.47±0.16 ^{A,a}	95.37± 0.66 ^{A,a}
	L	95.70±0.01 ^{A,a}	95.45±0.04 ^{A,a}	95.81±0.02 ^{A,a}	95.65±0.01 ^{A,a}	95.51±0.01 ^{A,a}
Yağ (%)	K	24.34±0.09 ^{A,a}	24.30±0.04 ^{A,a}	24.23±0.33 ^{A,a}	24.11±0.02 ^{A,a}	24.02 ± 0.16 ^{A,a}
	L	24.66±0.07 ^{A,a}	24.59±0.35 ^{A,a}	24.49±0.01 ^{A,a}	24.31± .16 ^{A,a}	24.27±0.16 ^{A,a}
Protein (%)	K	28.14±0.04 ^{B,a}	28.39±0.08 ^{B,a}	28.29±0.23 ^{B,a}	28.43±0.05 ^{B,a}	28.64± 0.03 ^{B,a}
	L	30.32±0.02 ^{A,a}	30.28±0.06 ^{A,a}	30.54±0.09 ^{A,a}	30.63±0.16 ^{A,a}	30.42± 0.04 ^{A,a}

^{a,b,c}, Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

^{A,B,C}, Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozu.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozu.

Depolama periyodu boyunca K ve L örneklerinin titrasyon asitliği artan değerler almıştır. Titrasyon asitliğindeki bu artışın nedeni, laktik asit bakterilerinin faaliyetlerinin devam etmesi sonucu laktozun laktik aside dönüşmesi olarak düşünülebilir. Üretim yönteminin titrasyon asitliğine etkisi önemli bulunmuştur (P<0.05). Nalchi (2014), liyofilize yöntem kullanarak ürettiği yoğurt tozunun asitlik değerini %8.54 olarak bulmuştur. Çalışmamızda yoğurt tozlarında tespit ettiğimiz titrasyon asitliği değerleri bu çalışmayla paralellik göstermektedir.

Depolama süresi boyunca yoğurt tozlarının kurumadde değerleri % 95.37-95.81 aralığında birbirine yakın değerler almıştır. Kurutulmuş üründe kuru madde içeriği, kurutma işleminin etkinliği açısından önemli bir parametredir. Kurutulmuş ürünün raf ömrünün uzun olması kuru madde içeriği ile yakından ilişkilidir. Kearney (2009), kurutulmuş toz ürünlerde kurumadde miktarının % 95'in üzerinde olması gerektiğini belirtmektedir. Nalchi (2014), liyofilize yöntem kullanarak ürettiği yoğurt tozunun kurumadde miktarını 94.29 olarak belirlerken; Koç (2008), püskürtmeli yöntemle ürettiği yoğurt tozunda 90 °C hava çıkış sıcaklığında kurumadde değerini % 96.02, 60 °C'de ise % 92.83 olarak belirlemiştir.

Üretilen yoğurt tozlarının yağ değerleri % 24.02 ile % 24.66 arasında değişim göstermiştir. Yağ değerlerindeki değişim üretim yöntemi ve depolama periyoduna göre istatistiksel olarak önemli değildir.

K ve L örneklerinin protein değerleri incelendiğinde K örneğinin protein değerinin L örneğinin protein değerinden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 2). Üretim yöntemindeki sıcaklık farkı örneklerin protein değerleri arasında önemli bir fark meydana getirmiştir (P<0.05). K örneğinin üretiminde kullanılan yüksek sıcaklıktan dolayı protein kaybı meydana gelmiştir.

Kumar ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada; 50 °C, 60 °C ve 70 °C'de konveksiyonel sıcak hava ile kurutulan Dahi (Hindistan yoğurdu) tozlarının protein içeriğini sırasıyla %1.48, %1.19, %1.08 olarak bulmuş ve sıcak hava artışına bağlı olarak suda çözünür proteinlerin nemle birlikte buharlaştığı buna bağlı olarak protein oranında azalış meydana geldiği belirtilmiştir. Benzer şekilde Tontul ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada da 60 °C'de kırım pencere kurutma ve -80 °C'de dondurarak kurutma ile kurutulan yoğurt tozlarının protein değeri sırasıyla 56.6 ve 57.4 olarak bulunmuştur.

3.1.2. Fiziksel özellikler

Yoğurt tozlarının depolama periyodu boyunca ölçülen renk, çözünürlük, dağılıbilirlik ve ıslanabilirlik özelliklerine ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir.

Üç boyutlu CIE renk ölçüm sisteminde L*, siyahı ve beyazı (0 siyah-100 beyaz), a* kırmızılığı ve yeşilliği (- yeşil, +kırmızı) b* ise sarı ve maviliği (- mavi, +sarı) ifade etmektedir.

Depolama süresince K örneğinin; L* değeri 85.32 ile 87.79 aralığında, a* değeri -3.46 ile -3.25 aralığında, b* değeri 24.70 ile 26.15 aralığında belirlenirken, L örneğinin L* değeri 95.11 ile 95.98

aralığında, a* değeri -0.59 ile -0.31 aralığında, b* değeri 13.99 ile 15.32 aralığında belirlenmiştir. Süt ve süt ürünlerinde uygulanan ısı işlem etkinliği elde edilen ürünün rengini etkilediğinden dolayı K ve L örneklerinin renk tonları istatistiksel olarak önemli bir fark göstermiştir. Örneklerin renginde meydana gelen değişim konveksiyonel yöntemde yüksek sıcaklık nedeniyle meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ile ilişkilidir. Tontul ve ark. (2018) 50, 60 ve 70 °C’de kuruttukları yoğurt tozlarının renk değerlerinin sıcaklık artışına bağlı olarak L* ve a* değerinin azaldığı, b* değerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Renk değerlerinde meydana gelen değişimin sebebi sıcaklık artışına bağlı meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Benzer sonuçlar Carvalho ve ark. (2017) tarafından da ifade edilmiştir.

Çözünebilme oranı, süt veya süt ürünlerinden elde edilen toz gıdaların kalitesinin belirlenmesinde çok yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir. Çizelge 3 incelendiğinde üretilen yoğurt tozlarının çözünürlük özellikleri K örneklerinde 72.40 ile 74.30, L örneklerinde 84.60 ile 86.20 aralığında olduğu görülmektedir. Depolama süresinin örneklerin çözünürlük değerine etkisi önemsiz iken, üretim yönteminin örneklerin çözünürlük değerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Diona- Georgeta ve ark. (2016) 100 °C’de konveksiyonel sıcak hava ile kuruttukları yoğurt tozunun çözünürlük değerini % 26 olarak bulmuştur. Dibyakonta ve ark. (2017) ile Koç ve ark. (2014) sprey kurutma ile kuruttukları yoğurt tozlarının çözünürlük değerlerini sırasıyla % 72-88 ve % 65-72 aralığında bulmuştur. Çalışmacıların kurutma sistemlerinde giriş hava sıcaklığı arttıkça çözünürlük oranı azalmıştır. Tozların çözünürlük oranı laktoz, denatüre olmuş serum proteini, çözünür tuzlar, ortamın pH’sı gibi faktörlerden etkilenir (Fang ve ark., 2008). Süt ve süt ürünlerinden yapılan tozların çözünürlüğü protein denatürasyon düzeyine göre değişir. Tozların üretim sürecindeki ısı işlemler proteinlerin denatürasyonuna neden olur. Denatüre olan proteinlerin çözünürlüğünün düşük olması tozun çözünürlüğünü de düşürür. Aynı zamanda, serum proteinlerinin çözünebilme yeteneğinin pH 7’de yüksek iken, pH 5’in altına inildiğinde %15 oranında düştüğü de belirtilmektedir (Thomas ve ark., 2004). Yukarıdaki literatür bilgilerine paralel olarak çalışmamızda K örneğinin üretim yöntemindeki yüksek sıcaklık ve daha düşük pH değeri çözünürlük oranının da düşük olmasına sebep olmuştur.

Çizelge 3. Depolama periyodu boyunca yoğurt tozlarında belirlenen fiziksel özellikler

Analiz	Örnek	Depolama Periyodu (Gün)				
		1	15	30	60	90
Renk	L*	85.67±0.49 ^{B,a}	85.32±0.21 ^{Ba}	86.02±0.12 ^{B,a}	86.88±0.38 ^{B,a}	87.79±0.77 ^{B,a}
	K a*	-3.36±0.05 ^{B,a}	-3.25±0.05 ^{B,a}	-3.46±0.06 ^{B,a}	-3.28±0.03 ^{B,a}	-3.32±0.02 ^{B,a}
	b*	25.47±1.62 ^{A,a}	25.83±0.25 ^{A,a}	26.15±1.22 ^{Aa}	25.36±0.35 ^{Aa}	24.70±0.03 ^{Aa}
Renk	L*	95.26±0.04 ^{A,a}	95.56±0.40 ^{A,a}	95.98±0.62 ^{A,a}	95.11±0.21 ^{A,a}	95.51±0.31 ^{A,a}
	L a*	-0.31±0.05 ^{A,a}	-0.40±0.03 ^{A,a}	-0.50±0.15 ^{A,a}	-0.55±0.10 ^{A,a}	-0.59±0.02 ^{A,a}
	b*	13.99±0.02 ^{B,a}	14.94±0.20 ^{B,a}	14.02±0.37 ^{B,a}	15.32±0.18 ^{B,a}	14.05±0.12 ^{B,a}
Çözünürlük (%)	K	73.50±0.50 ^{A,a}	72.80±0.20 ^{A,a}	74.30±0.40 ^{A,a}	72.70±0.30 ^{A,a}	72.40±0.20 ^{A,a}
	L	86.00±0.00 ^{B,a}	86.20±0.20 ^{B,a}	85.50±0.50 ^{B,a}	84.60±0.40 ^{B,a}	85.60±0.20 ^{B,a}
Dağılılırlık (s)	K	997±12.50 ^{B,a}	1027±14.00 ^{B,a}	1043±12.50 ^{B,a}	1039±23.50 ^{B,a}	1007±16.00 ^{B,a}
	L	1165±10.00 ^{A,a}	1117±14.00 ^{A,a}	1090±0.75 ^{A,a}	1101±18.00 ^{A,a}	1183±33.50 ^{A,a}
Islanabilirlik (s)	K	1248±13.00 ^{B,a}	1219±71.00 ^{B,a}	1237±7.50 ^{B,a}	1245±17.50 ^{B,a}	1227±19.50 ^{B,a}
	L	1331±11.50 ^{A,a}	1311±43.00 ^{A,a}	1323±9.00 ^{A,a}	1302±4.50 ^{A,a}	1346±6.50 ^{A,a}

^{a,b,c}, Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir (P<0.05).

^{A,B,C}, Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir (P<0.05).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozu.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozu.

Çizelge 3’e göre depolama periyodu boyunca K ve L örneklerinin dağılılırlık ve ıslanabilirlik değerlerindeki değişim üretim yöntemine göre önemli görülmüştür (P<0.05). Dağılılırlık ve ıslanabilirlik değeri; tozun morfolojisi, boyutu, geometrisi ve gözenekliliği ile doğrudan ilişkilidir ve daha düşük dağılıma ve ıslatma süresi arzu edilen bir özelliktir. Ayrıca toz materyalin yağ içeriği dağılıma ve ıslanma süresini olumsuz etkiler. Çünkü yağ yüzeyde hidrofobik bir yapı oluşturup yüzeyi yapışkan

bir köprü gibi kaplayarak dağılma ve ıslanma süresini uzatır (Seth ve ark., 2017). Sıcaklığın artırılması, tersinmez olarak denatürasyonun artmasına sebebiyet verdiği için, süt ürünlerinin rekonstitüe edilmesi sırasında denatüre olmuş proteinin sabit bir dağılılabirlik ve ıslanabilirlik göstermediği belirtilmiştir (Nale, 2013).

Koç (2008), püskürtmeli kurutucuyla yoğurt tozu üretim prosesinin optimizasyonu üzerine yaptığı tez çalışmasında; yoğurt tozlarının dağılılabirlik sürelerini 194-897, ıslanabilirlik sürelerini 316-1007 saniye aralığında tespit etmiştir. Kim ve ark. (2002), yaptıkları bir çalışmada püskürtmeli kurutucuda kurutularak elde edilen üç farklı endüstriyel süt tozu ürünü olarak belirledikleri yağsız süt tozu, yağlı süt tozu ve süt yağı tozunun fizikokimyasal davranışlarını incelemişlerdir. Yağsız süt tozu örneğinde ıslanabilirlik süresi yaklaşık 10 dakika sürerken, diğer örneklerde 15 dakikadan uzun süreler tespit edilmiştir.

Literatür çalışmalarına paralel olarak örneklerimizde yağ oranının yüksek olması K ve L örneklerinin dağılılabirlik ve ıslanabilirlik sürelerini olumsuz etkilediği ve süreyi arttırdığı gözlemlenmiştir.

3.1.3. Mikrobiyolojik özellikler

Depolama süreci boyunca yoğurt tozlarında saptanan mikrobiyolojik özellikler log KOB/g olarak Çizelge 4’de verilmiştir.

Çizelge 4. Depolama süreci boyunca yoğurt tozlarında saptanan mikrobiyolojik özellikler (log KOB/g)

Örnek	Sayımı yapılan mikroorganizma	Depolama Periyodu (Gün)				
		1	15	30	60	90
K	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	3.71±0.01 ^{B,a}	3.68±0.02 ^{B,a}	3.32±0.01 ^{B,ab}	2.97±0.02 ^{B,ab}	2.68±0.03 ^{B,b}
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	4.45±0.04 ^{B,a}	4.36±0.07 ^{B,a}	4.30±0.03 ^{B,a}	4.24±0.07 ^{B,a}	4.17±0.17 ^{B,a}
	TMAB	5.19±0.02 ^{A,a}	5.14±0.30 ^{A,a}	5.12±0.16 ^{A,a}	5.16±0.12 ^{A,a}	5.10±0.09 ^{A,a}
	Toplam maya-küf	T.E	0.50±0.01 ^{A,a}	0.70±0.02 ^{A,a}	0.78±0.07 ^{A,a}	0.62±0.10 ^{A,a}
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	5.67±0.03 ^{A,a}	5.65±0.04 ^{A,a}	5.56±0.04 ^{A,a}	5.50±0.01 ^{A,a}	5.41±0.04 ^{A,a}
L	<i>Streptococcus thermophilus</i>	6.80±0.01 ^{A,a}	6.70±0.05 ^{A,ab}	6.63±0.00 ^{A,ab}	6.47±0.07 ^{A,b}	6.44±0.04 ^{A,b}
	TMAB	4.91±0.07 ^{A,a}	4.95 ±0.04 ^{A,a}	4.99±0.04 ^{A,a}	4.96±0.02 ^{A,a}	4.90±0.03 ^{A,a}
	Toplam maya-küf	T.E	0.52±0.00 ^{A,a}	0.78±0.02 ^{A,a}	0.61±0.07 ^{A,a}	0.70±0.02 ^{A,a}
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	5.67±0.03 ^{A,a}	5.65±0.04 ^{A,a}	5.56±0.04 ^{A,a}	5.50±0.01 ^{A,a}	5.41±0.04 ^{A,a}

^{a,b,c}, Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

^{A,B,C}, Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozu.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozu.

T.E: Tespit Edilemedi.

Kurutma işlemi sonrasında yoğurt tozu kalitesini etkileyen kalite ölçütlerinden biri canlı laktik asit bakterisi sayısıdır. FAO/WHO’ya göre taze yoğurtta ve yoğurt tozunda *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterileri taze yoğurt tozunda minimum 5x10⁸ KOB/g düzeyinde bulunmalıdır.

Bilindiği üzere kurutulmuş örneklerin stabilitesi depolama süresince azalma gösterir. Ancak düşük sıcaklıklarda depolama var olan mikroorganizma yoğunluğunun hayatta kalma oranını arttırmaktadır (Nale, 2013). Çalışmamızda yoğurt tozlarının +4 °C’de depolanması ve ayrıca dış ortamın neminden etkilenmesini engelleyen ambalaj malzemesinde saklanması depolama süresince var olan mikroorganizma yoğunluğunu korumuş ve bakteri sayısının azalışını sınırlandırmıştır.

Çizelge 4 incelendiğinde K ve L örneklerinin *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısı depolama süresince azalan değerler göstermiştir. K örneğindeki *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* sayısındaki azalış 1. Ve 90. Günlerde istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05). K örneğinde saptanan *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısının L örneğinde saptanan *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısından daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun K örneğinin

üretim yönteminde kullanılan yüksek sıcaklık ve sürenin bakteri sayısını olumsuz etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda yoğurt tozu üretiminde kullanılan taze yoğurdun *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısı sırasıyla 7.21 log KOB/g ve 7.58 log KOB/g olarak bulunmuştur. Kurutma işleminden sonra ilk gün yapılan analizlerde K örneğinde *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısı sırasıyla 3.71 ve 4.45 log KOB/g, olarak; L örneğinde *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* sayısı sırasıyla 5.67 ve 6.80 log KOB/g, olarak bulunmuştur. Ergun ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada taze yoğurt ve dondurarak kurutma ile elde ettikleri yoğurt tozunda *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* sayısını sırasıyla 7.69 ve 6.31 log KOB/g olarak bulurken *Streptococcus thermophilus* sayısını sırasıyla 9.83 ve 9.45 log KOB/g olarak bulmuştur.

Tontul ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada; yoğurt tozu üretiminde kullanılan taze yoğurtta 9 log olan *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* sayısını 60 °C'de ve 0.5 mm kalınlığında sererek ürettiği yoğurt tozunda 4.48 log kob/g olarak belirlerken, dondurarak kurutma ile elde ettiği yoğurt tozunda 8.5 log KOB/g olarak belirlemiştir.

K ve L örneklerinde *Streptococcus thermophilus* sayısı *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* sayısından daha yüksek bulunmuştur. Konveksiyonel kurutmada sıcaklığın etkisiyle *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* bakterisinin membran geçirgenliği zarar gördüğünden dolayı bakteri sayısında daha fazla azalma görülür. Bu durum *Streptococcus thermophilus* bakterisinin *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* bakterisinden daha dirençli olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar literatürdeki bulgularla da desteklenmektedir (Ergün ve ark., 2013).

Yoğurt tozlarında saptanan TMAB sayısı log KOB/g olarak K örneğinde 5.19-5.10, L örneğinde 4.99-4.90 aralığında değişen değerler almıştır. K örneğinde depolama süresince tespit edilen TMAB sayısı L örneğinden daha yüksek bulunmasına rağmen depolama süresinin ve örneklerin üretim yönteminin TMAB sayısına etkisi istatistiksel olarak önemli görülmemiştir. TS 1329 Süttozu standardına göre, süttozunda bulunması gereken TMAB sayısı $5 \times 10^4 - 10^5$ adet/g olması gerektiği bildirilmektedir. Bu değerlere göre çalışmamızda K ve L örneklerinde tespit ettiğimiz TMAB sayısı standartlara uygunluk göstermektedir.

Çizelge 4 incelendiğinde depolamanın 1. Gününde K ve L örneklerinde maya ve küf tespit edilememiştir. Depolamanın ilerleyen günlerinde örneklerde saptanan toplam maya- küf sayıları çok küçük miktarda ve birbirine çok yakın değerler almıştır. Depolama süresi ve örneklerin üretim yöntemleri maya-küf sayısını etkilememiştir. Mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre süttozunda bulunması gereken maya- küf sayısının en fazla 10^3 olması gerektiği bildirilmektedir. Çalışmamızda tespit ettiğimiz maya- küf sayısı bu sınır değerinin çok altında tespit edilmiştir.

3.2. Rekonstitüe ayranlarda saptanan özellikler

3.2.1. Kimyasal analizler

Depolama süresi boyunca rekonstitüe ayranlarda saptanan kimyasal analiz sonuçları Çizelge 5'de verilmiştir.

İçerisine % 0.5 tuz eklenip paketlenerek +4 °C saklanan yoğurt tozları 1., 15., 30., 60. Ve 90. Günlerde rekonstitüe edilip belirlenen analizler yapılmıştır. 1. Gün rekonstitüe edilen ayran örnekleri 15. Güne kadar +4 °C'de depolanıp, $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranları olarak nitelendirilmiştir. Böylece rekonstitüe edilen ayranların rekonstitütasyon işleminden sonra göstermiş olduğu değişimleri gözlemlemek, dayanım süresini belirlemek ve toz halde ile rekonstitüe halde saklamanın farkı belirlenmek istenmiştir.

90 günlük depolama süresince K rekonstitüe ayranlarının pH değeri L rekonstitüe ayranlarının pH değerinden düşük olduğu belirlenmiştir. Üretim yönteminin farklılığı rekonstitüe ayranların pH değerini etkilemiştir ($P < 0.05$). $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranlarının pH değerinin 15. Günün sonunda K ve L ayranlarına göre istatistiksel olarak önemli bir azalış gösterdiği gözlemlenmiştir. 90 gün boyunca toz halde saklanan ve depolama boyunca pH bakımından önemli bir değişiklik göstermeyen ayran tozlarının rekonstitüe edildikten sonraki 15. Günün sonunda pH değerlerinin önemli derecede azalış gösterdiği görülmüştür. Bu durum temel olarak ayranların toz halinde saklanmasıyla ilgili avantajını, çalışmamızın amacını ve ulaşılmak istenen asıl sonucu ortaya koymaktadır.

Çizelge 5. Depolama süreci boyunca rekonstitüe ayranlarda saptanan kimyasal özellikler

Analiz	Örnek	Depolama Periyodu (Gün)				
		1	15	30	60	90
PH	K	3.96±0.01 ^{B,a,X,x}	3.96±0.04 ^{B,a,X,x}	3.94± 0,01 ^{B,a}	3.91± 0,04 ^{B,a}	3.89±0.01 ^{B,a}
	L	4.48±0.02 ^{A,a,X,x}	4.47 ± 0,0 ^{A,a,X,x}	4.45 ± 0.03 ^{A,a}	4.43 ± 0.02 ^{A,a}	4.40 ±0.05 ^{A,a}
	K Kontrol	3,96 ± 0.01 ^{X,x}	3.58±0.01 ^{Y,y}			
	L Kontrol	4,48± 0.02 ^{X,x}	3,99±0.02 ^{Y,y}			
Asitlik (%)	K	1.13±0.03 ^{A,a,X,x}	1.15±0.01 ^{A,a,Y,x}	1.18±0.01 ^{A,a}	1.21±0.01 ^{A,a}	1.29±0.01 ^{A,a}
	L	0.72±0.04 ^{B,a, X,x}	0.75±0.05 ^{B,a, Y,x}	0.80 ±0.03 ^{B,a}	0.86±0.01 ^{B,a}	0.92±0.05 ^{B,a}
	K Kontrol	1.13±0.03 ^{X,y}	1.36±0.00 ^{X,x}			
	L Kontrol	0.72±0.04 ^{X,y}	1,00±0.01 ^{X,x}			
Kurumadde(%)	K	11.72±0.04 ^{A,a,X,x}	11.74±0.15 ^{A,a,X,x}	11.45±0.02 ^{A,a}	11.58±0.02 ^{A,a}	11.71±0.08 ^{A,a}
	L	11.68 ±0.16 ^{A,a,X,x}	11.73±0.02 ^{A,a, X,x}	11.62±0.17 ^{A,a}	11.50±0.07 ^{A,a}	11.68±0.08 ^{A,a}
	K Kontrol	11.72±0.04 ^{X,x}	11.75 ±0.02 ^{X,x}			
	L Kontrol	11.68±0.16 ^{X,x}	11.70±0.03 ^{X,x}			
Yağ (%)	K	3,10±0.05 ^{A,a, X,x}	3.00±0.05 ^{A,a,X,x}	3.10±0.10 ^{A,a}	2.95±0.05 ^{A,a}	3.05±0.05 ^{A,a}
	L	3.00±0.03 ^{A,a, X,x}	3,05±0.10 ^{A,a, X,x}	3.10±0.05 ^{A,a}	3.05±0.05 ^{A,a}	3.00±0.10 ^{A,a}
	K Kontrol	3,10±0.05 ^{X,x}	3.05±0.05 ^{X,x}			
	L Kontrol	3.00±0.03 ^{X,x}	2,95±0.05 ^{X,x}			
Protein (%)	K	3.19±0.07 ^{B,a, X,x}	3.25±0.04 ^{B,a, X,x}	3.31±0.02 ^{B,a}	3.20±0.06 ^{B,a}	3.26±0.02 ^{B,a}
	L	4.18±0.02 ^{A,a, X,x}	4.10±0.06 ^{A,a, X,x}	4.12±0.05 ^{A,a}	4.23±0.08 ^{A,a}	4.29±0.02 ^{A,a}
	K Kontrol	3.19±0.07 ^{X,x}	3.23±0.03 ^{X,x}			
	L Kontrol	4.18±0.02 ^{X,x}	4.13±0.04 ^{X,x}			

^{A,B,C}, Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

^{a,b,c}, Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

^{X,Y}, Büyük harfler 1. Ve 15. Günlerde aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

^{x,y}, Küçük harfler 1. ve 15. günlerde aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir (P< 0.05).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

Akçay (2016) “Acılı ayran üretimi ve bazı özelliklerinin araştırılması” adlı tez çalışmasında 20 günlük depolama periyodunda kontrol örneğinin pH değerini 4.31 ile 3.65 aralığında azalan değerlerde bulmuştur. Farklı starter kültür kullanılarak üretilen ayranların kalite özelliklerinin incelendiği bir araştırmada; 21 günlük depolama süresince pH değeri; 1. günde 4.64, 21. Günde 3.83 olarak tespit edilmiştir (Polat, 2009). Çalışmamızda ayranların göstermiş olduğu pH değişimleri yapılan literatür çalışmalarına paralel şekilde bulunmuştur.

Titre edilebilir asitlik değeri, ayranın tat ve aromasıyla ilgili bir kalite kriteri olup ayranın tüketilebilirliği özelliğini kaybetmeden saklanabileceği sürenin belirlenmesinde son derece etkili bir faktördür. Ayranın titrasyon asitliği değeri laktik asit cinsinden en az % 0.6 olması gerektiği belirtilmiştir (Akçay, 2016). Çalışmamızda depolama periyoduna göre rekonstitüe ayranların titrasyon asitliği değerleri bir artış gösterse de bu artış önemli bulunmamıştır (P>0.05). Ancak üretim yönteminin farklılığı rekonstitüe ayranların titrasyon asitliği değerini istatistiksel olarak etkilemiştir. K_{kontrol} ve L_{kontrol} ayranlarının 15 günlük depolanmasında titrasyon asitliğinde önemli bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Asitlik derecesinin artışı, örnekleri tat- aroma yönünden de olumsuz etkilemiştir. Toz halinde saklanan ayran örnekleri 90 günlük depolama süresince 90. günde bile hala ilk günkü tat aromayı verebiliyorken, sulandırılmış halde depolanan ayranlar 15. günün sonunda önemli düzeyde tat- aroma değişimleri göstermiştir. Bu durum ayranların toz halde saklanmasının avantajını ve çalışmamızın temel amacını ortaya koymaktadır.

Ayranın fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyuusal ve probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada 30 günlük depolama süresince üç farklı zamanda titrasyon asitliği analizi yapılmıştır. Ayran örneklerinde belirlenen titrasyon asitliği değerleri 1. gün sonunda % 0.80-0.95, 15. gün sonunda % 0.93-1.10 ve 30. gün sonunda % 0.95-1.16 arasında değişmiştir (Zengin, 2011). Akçay (2016), çalışmasında 20 günlük depolama periyodunda kontrol örneğinin titrasyon asitliği değerlerini 0.56 ile 0.72 arasında artan değerlerde bulmuştur. Çalışmamızda yoğurt tozu üretim yönteminin etkisi nedeniyle K örneğinin titrasyon asitliği değerleri literatür çalışmalarından biraz yüksek bulunmuştur

ancak L örneğinin titrasyon asitliği literatür çalışmalarına paralel şekildedir. Bu durum dondurularak kurutulan örneklerin konveksiyonel kurutulan örneklere göre ürünün yapısını daha az değiştirdiğini ve daha iyi derecede sonuç alındığını göstermektedir.

Rekonstitüe ayranlar ile $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranları depolama süresi boyunca kurumadde, yağ ve protein değerleri bakımından önemli değişiklikler göstermemiştir ($P>0.05$).

3.2.2. Fiziksel analizler

Depolama süresi boyunca rekonstitüe ayranlarda saptanan serum ayrılması, viskozite ve renk ölçümleri Çizelge 6'da verilmiştir.

Çalışmamızda K ve L rekonstitüe ayranlarının serum ayrılması değerinin belirlenmesi için; depolama süresince belirlenen günlerde hazırlanan ayranlar 100 ml'lik silindirik mezürlerde +4 °C'de 1 günlük depolanmıştır. 1 günlük depolamanın ardından serum ayrılması değerleri saptanmıştır.

K ve L rekonstitüe ayranlarında saptanan serum ayrılması değerleri incelendiğinde; depolama süresince K örneklerinin serum ayrılması değerlerinin L örneklerinin serum ayrılması değerlerinden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 6. Depolama süreci boyunca rekonstitüe ayranlarda saptanan fiziksel özellikler

Analiz	Örnek	Depolama Periyodu (gün)				
		1	15	30	60	90
Serum Ayrılması (%)	K	3.30±0.01 ^{A,a,X,x}	3.50±0.50 ^{A,a,Y,x}	3.70±0.30 ^{A,a}	3.60±0.40 ^{A,a}	3.50±0.25 ^{A,a}
	L	1.10±0.10 ^{B,a,X,x}	1.00±0.20 ^{B,a,Y,x}	1.40±0.20 ^{B,a}	1.20±0.20 ^{B,a}	1.30±0.10 ^{B,a}
	$K_{kontrol}$	3.30±0.01 ^{X,y}	26.00±2.00 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	1.10±0.10 ^{Y,y}	11.00±1.00 ^{Y,x}			
Viskozite (cP)	K	8.39±0.14 ^{B,a,X,x}	8.11±0.12 ^{B,a,X,x}	8.25±0.07 ^{B,a}	7.93±0.26 ^{B,a}	7.85±0.07 ^{B,a}
	L	39.60±1.91 ^{A,a,X,x}	39.15±0.24 ^{A,a,X,x}	38.90±0.10 ^{A,a}	38.51±0.65 ^{A,a}	38.18±0.21 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	8.39±0.14 ^{Y,x}	8.28±0.21 ^{Y,x}			
	$L_{kontrol}$	39.60±1.91 ^{X,x}	39.53±0.06 ^{X,x}			
L*	K	86.71±0.97 ^{B,a,X,x}	87.69±0.10 ^{B,a,X,x}	87.30±0.52 ^{B,a}	88.99±0.72 ^{B,a}	87.59±0.77 ^{B,a}
	L	95.38±0.00 ^{A,a,X,x}	95.01±0.13 ^{A,a}	95.62±0.16 ^{A,a}	95.73±0.37 ^{A,a}	95.94±0.86 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	86.71±0.97 ^{X,x}	85.04±0.46 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	95.38±0.00 ^{X,x}	93.79±0.05 ^{X,x}			
Renk a*	K	-2.00±0.13 ^{B,a,X,x}	-2.07±0.04 ^{B,a,X,x}	-2.05±0.13 ^{B,a}	-2.13±0.06 ^{B,a}	-2.25±0.02 ^{B,a}
	L	-0.18±0.02 ^{A,a,X,x}	-0.20±0.10 ^{A,a,X,x}	-0.15±0.04 ^{A,a}	-0.23±0.01 ^{A,a}	0.21±0.05 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	-2.00±0.13 ^{X,x}	-1.97±0.29 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	-0.18±0.01 ^{X,x}	-0.21±0.08 ^{X,x}			
b*	K	16.23±1.10 ^{A,a,X,x}	16.86±0.84 ^{A,a,X,x}	16.15±0.52 ^{A,a}	16.74±0.75 ^{A,a}	16.70±0.03 ^{A,a}
	L	9.69±0.09 ^{B,a,X,x}	9.77±0.02 ^{B,a,X,x}	9.41±0.10 ^{B,a}	9.53±0.23 ^{B,a}	9.89±0.15 ^{B,a}
	$K_{kontrol}$	16.23±1.10 ^{X,x}	16.25±0.39 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	9.69±0.09 ^{X,x}	9.93±0.37 ^{X,x}			

^{A,B,C} Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

^{a,b,c} Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

^{X,Y} Büyük harfler 1. ve 15. günlerde aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

^{x,y} Küçük harfler 1. ve 15. günlerde aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

1. günde $K_{kontrol}$, $L_{kontrol}$ örneklerinin serum ayrılması değerleri sırasıyla % 3.30 ve % 1.10 olarak ölçülürken, bu örnekler 15.güne kadar depolandığında serum ayrılması değerleri sırasıyla % 26 ve % 11 olarak tespit edilmiştir. Toz halde depolanıp 15. günde rekonstitüe edilen K ve L ayranlarının serum ayrılması değerleri ise sırasıyla % 3.50 ve % 1.00 olarak tespit edilmiştir. Toz halde depolanıp 15. günde rekonstitüe edilen K ve L ayranlarında serum ayrılması değerleri 1. güne göre önemli bir değişim sergilemezken, 15.günde K ve $K_{kontrol}$ örnekleri ile L ve $L_{kontrol}$ örneklerinin serum ayrılması değerinde 1. güne göre meydana gelen değişim önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$

ayranlarında ciddi bir yapı kusuru iken, toz halde saklanıp daha sonra rekonstitüe edilen ayran örneklerinde 90 günlük depolama süresinde bile çok az miktarda serum ayrılması meydana gelmesi tüketiciler için daha çok tercih edilebilecek bir durumdur.

Yoğurt ve ayran gibi ürünlerin viskozitesi kalite ve reolojik özellikler bakımından oldukça önemlidir. Depolama süresinin viskozite değerlerindeki değişime etkisi önemsiz bulunmuştur. Üretim yöntemlerine göre K ve L rekonstitüe ayranları birbiriyle kıyaslandığında depolama süresince K ayranının viskozite değeri L ayranından daha düşük bulunmuştur. Viskozite değerleri arasındaki bu farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu farklılığın konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozunun yapısında bulunan proteinlerin yüksek sıcaklık etkisiyle bozunması ve su tutma kapasitesinin düşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Krasaekoopt ve Bhatia (2012); 50, 60 ve 70 °C’de kuruttukları yoğurt tozundan ürettikleri % 15 kuru maddeli içeceğin viskozite değerinin düşme sebebini, sıcaklık artışına bağlı olarak proteinlerin hasar görmesi olarak açıklamıştır.

90 günlük depolama süresince L örneği daha yüksek L^* , a^* değeri alırken daha düşük b^* değeri almıştır. Örneklerin üretim yöntemi L^* , a^* , b^* değerleri arasında istatistiksel olarak daha önemli bir farklılık meydana getirmiştir. Artan sıcaklığa bağlı olarak renk değişimlerinin meydana geldiği Tontul ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada da belirlenmiştir. $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranlarının renk değerlerinde 15 günlük depolama süresince önemli değişim gözlenmemiştir. Nalchi (2014), liyofilize yöntem kullanarak elde ettiği yoğurt tozundan ürettiği rekonstitüe yoğurdun 21 günlük depolama süresince kontrol örneğinde L^* , a^* , b^* değerlerinin değişmediğini vurgulamıştır.

3.2.3. Mikrobiyolojik özellikler

Depolama süresince belirlenen günlerde rekonstitüe edilen ayranların mikrobiyolojik özelliklerinde saptanan değerler Çizelge 7’de verilmiştir.

Çizelge 7. Depolama süresince rekonstitüe ayranlarda saptanan mikrobiyolojik değerler (log KOB/ml)

Sayımı yapılan bakteri	Örnek	Depolama Periyodu (Gün)				
		1	15	30	60	90
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	K	2.39±0.02 ^{B,a, X,x}	2.30±0.12 ^{B,a, X,x}	2.21±0.12 ^{B,a}	2.10±0.05 ^{B,a}	2.01±0.23 ^{B,a}
	L	4.50±0.05 ^{A,a,X,x}	4.47±0.02 ^{A,a, X,x}	4.41±0.07 ^{A,a}	4.32±0.03 ^{A,a}	4.29±0.08 ^{A,a}
	K kontrol	2.39±0.02 ^{X,x}	2.53±0.04 ^{X,x}			
	L kontrol	4.50±0.05 ^{X,x}	4.68±0.03 ^{X,x}			
<i>Streptococcus thermophilus</i>	K	3.25±0.01 ^{B,a, X,x}	3.16±0.06 ^{B,a, X,x}	3.05±0.01 ^{A,a}	2.97±0.08 ^{A,a}	2.89±0.02 ^{A,a}
	L	5.61±0.06 ^{A,a, X,x}	5.57±0.01 ^{A,a, X,x}	5.50±0.04 ^{A,a}	5.34±0.04 ^{A,a}	5.12±0.03 ^{A,a}
	K kontrol	3.25±0.01 ^{X,x}	3.58±0.06 ^{X,x}			
	L kontrol	5.61±0.06 ^{X,x}	5.82±0.07 ^{X,x}			
TMAB	K	4.17±0.03 ^{A,a,X,x}	4.11±0.24 ^{A,a, Y,x}	4.08±0.12 ^{A,a}	3.99±0.14 ^{A,a}	3.95±0.11 ^{A,a}
	L	3.83±0.03 ^{A,a, X,x}	3.89±0.03 ^{A,a, Y,x}	3.84±0.01 ^{A,a}	3.79±0.12 ^{A,a}	3.76±0.00 ^{A,a}
	K kontrol	4.17±0.03 ^{X,y}	6.75±0.21 ^{X,x}			
	L kontrol	3.83±0.03 ^{X,y}	5.78±0.04 ^{X,x}			
Toplam Maya-Küf	K	0.47 ^{A,a,X,x}	0.42±0.01 ^{A,a,Y,x}	0.61±0.03 ^{A,a}	0.49±0.01 ^{A,a}	0.85±0.01 ^{A,a}
	L	0.49 ^{A,a,X,x}	0.47±0.00 ^{A,a, Y,x}	0.54±0.01 ^{A,a}	0.67±0.01 ^{A,a}	0.32±0.03 ^{A,a}
	K kontrol	0.47 ^{X,y}	1.34±0.03 ^{X,x}			
	L kontrol	0.49 ^{X,y}	1.30±0.00 ^{X,x}			

^{A,B,C}, Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{a,b,c}, Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{X,Y}, Büyük harfler 1. ve 15. günlerde aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{x,y}, Küçük harfler 1. ve 15. günlerde aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

Depolama süresince örneklerin *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sayılarının göstermiş olduğu değişim önemsiz bulunmuştur. Rekonstitüe ayranların TMAB sayısı K örneğinde 4.17-3.95 log KOB/ml, L örneğinde 3.89-3.76 log KOB/ml aralığında değişen değerler almıştır. $K_{kontrol}$ örneğinde TMAB sayısı 1.gün 4.17 log KOB/ml, 15.gün 6.75 log KOB/ml, $L_{kontrol}$ örneğinde 1.gün 3.83 log KOB/ml, 15. gün 5.78 log KOB/ml olarak artmıştır.

Yaptığımız çalışmada 90 gün boyunca toz halde depolayıp belirlenen periyotlarda rekonstitüe ettiğimiz ayranlarda TMAB bakterisi yoğunluğunun değişmemesine rağmen; rekonstitüe edip 15 gün depoladığımız ayranlarda bakterisi yoğunluğunun önemli düzeyde arttığı gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). Bu bakterisi yoğunluğundaki artış ortamdaki serbest su miktarının artmasına bağlı olarak bakterilerin hızla gelişip çoğalmasından kaynaklanmaktadır.

K ve L ayranlarında saptanan maya- küf sayıları depolama süresince sırasıyla 0.42- 0.85 log KOB/ml ve 0.32-0.67 log KOB/ml aralığında değişen değerlerde bulunmuştur. Depolama süresinin ve üretim yönteminin ayranların maya- küf sayısını etkilemediği tespit edilmiştir ($P > 0.05$). $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranlarının 15 günlük depolama süresince maya- küf sayılarında önemli bir artış tespit edilmiştir. Ayrıca $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranlarının 15. günündeki maya- küf artışı, toz halde saklanan ve 15. gün rekonstitüe edilen K ve L örneklerine göre önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Çalışmamızda K ve L ayranlarında 90 günlük depolama süresince tespit edilen toplam maya- küf miktarı, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde belirtilen sınır değeri olan 2 log değerinin altında tespit edilirken; rekonstitüe halde depolanan $K_{kontrol}$ ve $L_{kontrol}$ ayranlarında 15 günlük depolama sonunda maya- küf miktarı önemli bir artış göstererek 2 log olan sınır değerine yaklaşmıştır.

3.2.4. Duyusal analizler

Rekonstitüe ayranlara ait duyusal değerlendirme bulguları Çizelge 8’de verilmiştir. K ve L ayranlarında yapılan duyusal analizlerde görünüş, kıvam tat, koku, renk özelliği bakımından L örneği panelistler tarafından daha çok beğenilmiştir. L örneğinin genel beğenirlik düzeyinin K örneğinden yüksek bulunması ve panelistler tarafından daha çok tercih edilmesi toz ürünlerin üretiminde liyofilize yöntemin ürünün niteliklerini daha iyi koruduğu sonucuna ulaştırmaktadır.

Çizelge 8. Depolama süresince rekonstitüe ayranlarda saptanan duyusal özellikler

Analiz	Örnek	Depolama Periyodu (Gün)				
		1	15	30	60	90
Görünüş	K	2.8±0.04 ^{B,a, X,x}	2.6±0.04 ^{B,a, X,x}	2.7±0.00 ^{B,a}	2.4±0.64 ^{B,a}	2.5±0.89 ^{B,a}
	L	4.6±0.35 ^{A,a}	4.4±6.48 ^{A,a}	4.6±0.48 ^{A,a}	4.2±0.94 ^{A,a}	4.8±0.00 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	2.8±0.04 ^{X,x}	2.5±0.10 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	4.6±0.35 ^{X,x}	4.5±0.00 ^{X,x}			
Kıvam	K	3.4±0.48 ^{B,a, X,x}	3.6±0.67 ^{B,a, X,x}	3.2±0.33 ^{B,a}	3.4±0.94 ^{B,a}	3.5±0.50 ^{B,a}
	L	4.8±0.50 ^{A,a, X,x}	4.8±0.39 ^{A,a}	4.6±0.50 ^{A,a}	4.5±0.39 ^{A,a}	4.7±0.39 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	3.4±0.48 ^{X,x}	3.5±2.14 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	4.8±0.50 ^{X,x}	4.6±1.15 ^{X,x}			
Tat	K	2.3±0.71 ^{B,a, X,x}	2.1±0.02 ^{B,a, X,x}	2.3±0.73 ^{B,a}	1.9±0.20 ^{B,a}	2.0±0.00 ^{B,a}
	L	4.8±0.34 ^{A,a, X,x}	4.9±0.81 ^{A,a, X,x}	4.5±0.84 ^{A,a}	4.7±0.00 ^{A,a}	4.8±0.59 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	2.3±0.71 ^{X,x}	1.0±0.00 ^{Y,y}			
	$L_{kontrol}$	4.8±0.34 ^{X,x}	3.0±0.43 ^{Y,y}			
Koku	K	3.5±0.82 ^{B,a}	3.6±0.19 ^{B,a, X,x}	3.4±0.72 ^{B,a}	3.5±0.63 ^{B,a}	3.2±0.13 ^{B,a}
	L	4.8±0.45 ^{A,a, X,x}	4.7±0.75 ^{A,a, X,x}	4.9±0.67 ^{A,a}	4.8±0.76 ^{A,a}	4.7±0.15 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	3.5±0.82 ^{X,x}	3.4±0.21 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	4.8±0.45 ^{X,x}	4.5±0.54 ^{X,x}			
Renk	K	2.2±0.73 ^{B,a, X,x}	2.1±0.77 ^{B,a, X,x}	1.9±0.47 ^{B,a}	2.0±0.45 ^{B,a}	1.9±0.66 ^{B,a}
	L	4.7±0.94 ^{A,a, X,x}	4.8±0.89 ^{A,a, X,x}	4.9±0.48 ^{A,a}	4.7±0.94 ^{A,a}	4.9±0.48 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	2.2±0.73 ^{X,x}	2.0±0.45 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	4.7±0.94 ^{X,x}	4.5±0.64 ^{X,x}			
Genel Beğeni	K	3.3±0.71 ^{B,a, X,x}	3.4±0.48 ^{B,a, X,x}	3.0±0.75 ^{B,a}	3.1±0.64 ^{B,a}	3.3±0.69 ^{B,a}
	L	4.2±0.41 ^{A,a, X,x}	4.0±0.03 ^{A,a, X,x}	4.0±0.00 ^{A,a}	4.4±0.33 ^{A,a}	4.6±0.39 ^{A,a}
	$K_{kontrol}$	3.3±0.71 ^{X,x}	3.0±0.05 ^{X,x}			
	$L_{kontrol}$	4.2±0.41 ^{X,x}	4.0±0.65 ^{X,x}			

^{A,B,C}, Büyük harfler aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{a,b,c}, Küçük harfler aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{X,Y}, Büyük harfler 1. ve 15. günlerde aynı sütunda örnekler arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

^{x,y}, Küçük harfler 1. ve 15. günlerde aynı satırda aynı örneğe ait depolama periyotları arası farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

K: Konveksiyonel yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

L: Liyofilize yöntemle üretilen yoğurt tozundan rekonstitüe edilen ayran.

90 gün boyunca toz halde saklanan ve depolama boyunca sahip olduğu özellikleri koruyan, 90. günde bile rekonstitüe edildiğinde hala ilk günkü tat ve aromasını yakalayan ayran tozlarının, rekonstitüe edildikten sonraki 15. günün sonunda duyuşal özelliklerini önemli derecede kaybettiği dayanımının azaldığı görülmüştür. Bu durum temel olarak ayranların toz halinde saklanması avantajını, çalışmamızın amacını ve ulaşılmak istenen asıl sonucu ortaya koymaktadır. Bu noktada hem tüketicinin beğeneceği hem de raf ömrü sıkıntısı olmadan depolanabilecek bir ürün elde etmek çalışmamızın esasını oluşturmaktadır.

4. Sonuç ve Öneriler

Çalışma süresince yoğurt tozlarında ve rekonstitüe ayranlarda yapılan kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve duyuşal analizler ışığında aşağıdaki sonuç ve öneriler elde edilmiştir.

Konveksiyonel ve liyofilize olmak üzere farklı iki yöntem ile yoğurt tozu elde edilmiş ve farklılıkları ortaya konulmuştur.

Kullanıma hazır ürün elde edilerek; dayanıklı, taşınması kolay, soğuk depolamaya ihtiyaç duyulmayan, oda sıcaklığında bile lezzetini uzun süre koruyabilen, zamandan tasarruf sağlayan, hacim azalması sonucu depolama ve nakliyatla kolaylık sağlayan bir ürün elde edilmiştir.

Yoğurt tozu haricinde ilk defa toz ayran üretimi gerçekleştirilmiş ve belirtilen depolama süresi boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal açıdan değişimleri izlenmiştir.

Yoğurt tozlarının ve rekonstitüe ayranların fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri depolama periyoduna göre istatistiksel olarak önemli değişimler sergilememiştir. Ürünler kalite özelliklerini koruyarak bozulmadan 90 gün boyunca depolanabilmiştir.

Üretim yöntemine bağlı olarak yoğurt tozu ve rekonstitüe ayranların fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri istatistiksel olarak önemli değişimler göstermiştir.

Liyofilize yöntem ile üretilen yoğurt tozları konveksiyonel yöntem ile üretilen yoğurt tozlarına kıyasla daha iyi fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik sonuçlar vermiş ve duyuşal analizlerde genel beğenirliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Kimyasal özellikler bakımından liyofilize yöntem ile üretilen örneklerde pH daha düşük, asitlik ve protein oranı daha yüksek bulunmuştur.

Fiziksel özellikler bakımından liyofilize örneklerde renk, viskozite, çözünürlük, dağılılabilirlik ve ıslanabilirlik değerleri daha yüksek; serum ayrılması değeri daha düşük bulunmuştur.

Mikrobiyolojik özellikler bakımından liyofilize örneklerde *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sayısı daha yüksek bulunmuştur.

Duyuşal özellikler bakımından liyofilize örneklerde görünüş, kıvam, tat, koku, renk ve genel beğeni özellikleri daha yüksek puan almıştır.

Bu çalışma ışığında; yoğurt tozu üretimiyle ilgili farklı yöntemlerin denenip çalışmaların yaygınlaştırılması, yoğurt tozu üretiminde daha düşük yağ oranına sahip yoğurdun kullanılması, üretim yönteminde konveksiyonel üretime nazaran liyofilize üretimin tercih edilmesi, farklı ambalaj yöntemleriyle pratik kullanımının artırılması önerilebilir.

Teşekkür

Bu çalışmayı FYL-2017-6012 numaralı proje ile destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Kaynakça

- Anonim, (1979). *IDF:87, Determination of the Dispersibility and Wettability of Instant Dried Milk*. International Dairy Federation.
- Anonim, (2008). *Yoğurt*. Mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi. Ankara. 70.
- Anonim, (1988). *IDF:129A, Determination of Insolubility Index of Caseins and Caseinates*. International Dairy Federation.
- Anonim, (1994). *TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardı*. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, (2004). *TS ISO 7889, Yoğurt, Karakteristik Mikroorganizmaların Sayım, 37°C'ta koloni sayım tekniği*. Ankara.

- AOAC, (1990). *Official Methods of Analysis* (15th Edition). Association of Official Analysis Chemists, Dibyakonta S., Hari N. M., & Sankar C. D. (2017) Functional and reconstitution properties of spray-dried sweetened yogurt powder as influenced by processing conditions. *International Journal of Food Properties*, 20(7), 1603-1611. doi: 10.1080/10942912.2016.1214965.
- Ergün, K., (2012). *Dondurularak Kurutulmuş Kivi Püresi Tozu Kullanılarak Hazırlanan Keklerde Pişirme Yöntemi ve Formülasyonun Kalite Kriterlerine Etkisinin İncelenmesi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Ergün, K., Gündüz, G., Yilmazer, M. S., Dirim, S. N., & Ertekin, F. K. (2013). Freeze Drying of Yoghurt with Candied Chestnut Puree: Survival of Lactic Acid Bacteria and Determination of Physical Properties. *Italian Journal of Food Science*, 85(4), 470-475.
- Fang Y., Selomulya C., & Chen X. D. (2008). On Measurement of Food Powder Reconstitution Properties. *Drying Technology*, 26, 3-14.
- Gülmez, M., & Güven, A. (2003). Survival of escherichia coli, listeria monocytogenes and yersinia enterocolitica in ayran and modified kefir as pre-and post fermentation contaminant. *VetMed-Czech*, 48(5), 126-132. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02016.x
- Kearney, N., Meng, X. C. Stanton, C., Kelly, J., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P. (2009). Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. *International Dairy Journal*, 19, 684- 689. doi.10.1016/j.idairyj.2009.05.003
- Koc, B., Yilmazer, M. S., Ertekin, F. K., & Balkir, P. (2014) Physical Properties of Yoghurt Powder Produced by Spray Drying. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 1377–1383.
- Koç, B. (2008). *Püskürtmeli Kurutma Yöntemi ile Yoğurt Tozu Üretim Koşullarının Optimizasyonu* (yüksek lisans tezi). Ege Üniversitesi, İzmir.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2004). Comparison of texture of yogurt made from conventionally treated milk and uht milk fortified with low-heat skim milk powder. *Journal of Food Science*, 69, 276-280. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10998.
- Kumar, D. A., Tejaswini, V. V., Srigiri, D., & Bhaskara D. R. (2016). Development of Process Technology for Making Dahi Powder. *International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)*, 6, 99-104.
- Kumar, P., Mishra, H. N., (2004a). Yoghurt Powder- A review of Process Technology, Storage and Utilization. *Food and Bioproducts Processing*, 82(C2): 133-142.
- Kumar, P., Mishra, H. N., (2004b). Storage Stability of Mango Soy Fortified Yoghurt Powder in Two Different Packaging Materials: HDPP and ALP. *Journal of Food Engineering*, 65: 569-576.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., & Çağlar, A. (2003). *Süt Mamülleri Muayene ve Analiz Metotlar Rehberi*. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum.
- Nalchi M. (2014). *Rekonstitüe Yoğurdunun Özellikleri Üzerine Stabilizatör Kullanımının ve Depolama Süresinin Etkileri* (yüksek lisans tezi). Çukurova Üniversitesi. Adana.
- Nale, Z., (2013). *Prebiyotik Eklenmiş Kefirin Püskürterek Kurutulması ve Ürünün Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi* (yüksek lisans tezi). Akdeniz Üniversitesi, Antalya.
- Özünlü, T. B. (2005). *Ayran Kalitesinde Etkili Bazı Parametreler Üzerine Araştırmalar* (doktora tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Saçkesen, S.N.D., Ocak, E., (2019). Peyniraltı Suyuyla Zenginleştirilmiş Fermente Süt İçeceği Üretimi. *Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(2), 309-317. DOI: 10.29133/yyutbd.486896
- SAS. (2014). SAS/STAT Software: Hangen and Enhanced, Version 9.4, SAS, Inst. Inc., Cary, N.C. USA.
- Thomas, M. E. C. Scher, J., & Desobry-Banon, S. (2004). Milk powder sageing: Effect on physical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 297-322. doi: [10.1080/10408690490464041](https://doi.org/10.1080/10408690490464041)
- Tontul, İ., Ergin, F., Eroğlu, E., Küçükçetin, A., & Topuz, A. (2018). Physical and microbiological properties of yoghurt powder produced by refractance window drying. *International Dairy Journal*, 85, 169-176. doi: [10.1016/j.idairyj.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.002)



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Bioactive Properties of *Halymenia durvillei* Bory 1828 for Pharmaceutical Application: Antioxidant, Antidiabetic, Antiwrinkling and Skin-Whitening Activities

Eldrin DLR. ARGUELLES*¹

¹Philippine National Collection of Microorganisms (PNCM), National Institute of Molecular Biology and Biotechnology (BIOTECH), University of the Philippine Los Baños, College, Laguna, 4031, Philippines

¹<https://orcid.org/0000-0003-1856-670X>

*Corresponding author e-mail: edarguelles@up.edu.ph

Article Info

Received: 28.10.2021

Accepted: 25.01.2022

Online published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1016050

Keywords

Biological activity,
Chemical composition,
Marine,
Philippines,
Seaweeds

Abstract: Seaweeds are known sources of bioactive compounds that provide diverse health benefits. However, knowledge on the potential pharmaceutical application of some economically important seaweeds such as *Halymenia durvillei* is still limited. In this study, the bioactive properties of *H. durvillei* were studied. The results showed that the macroalga contains a total phenolic content (TPC) of 6.77 ± 0.03 mg GAE/g. Antioxidant activity of *H. durvillei* exhibited potent ABTS⁺ radical scavenging activity and high copper reduction capacity with IC₅₀ value of 106 µg GAE/mL and 20.44 µg GAE/mL, respectively. *In vitro* assessment of tyrosinase and elastase inhibition properties of *H. durvillei* extract showed that the alga has potent inhibitory activity with IC₅₀ of 40 µg GAE/mL and IC₅₀ of 696 µg GAE/mL, respectively more effective than kojic acid and tocopherol. In addition, evaluation of α-amylase inhibition properties showed that *H. durvillei* extract has potent inhibitory activity with IC₅₀ value of 56 µg GAE/mL more effective than acarbose (standard anti-diabetic drug) with IC₅₀ of 101 µg/mL. The current investigation shows the potential of *H. durvillei* for the pharmaceutical application, which can be utilized for the synthesis of novel drugs.

To Cite: Arguelles, E. DLR. 2021. Bioactive Properties of *Halymenia durvillei* Bory 1828 For Pharmaceutical Application: Antioxidant, Antidiabetic, Antiwrinkling and Skin-Whitening Activities. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 57-68. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1016050>

Farmasötik Uygulama İçin *Halymenia durvillei* Bory 1828'in Biyoaktif Özellikleri: Antioksidan, Antidiyabetik, Kırışıklık Önleyici ve Cilt Beyazlatıcı Aktiviteler

Makale Bilgileri

Geliş: 28.10.2021

Kabul: 25.01.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1016050

Anahtar Kelimeler

Biyolojik aktivite,
Kimyasal bileşim,
Deniz,
Filipinler,

Öz: Deniz yosunları, çeşitli sağlık yararları sağlayan biyoaktif bileşiklerin bilinen kaynaklarıdır. Bununla birlikte, *Halymenia durvillei* gibi ekonomik açıdan önemli bazı deniz yosunlarının potansiyel farmasötik uygulamalarına ilişkin bilgiler hala sınırlıdır. Bu çalışmada *H. durvillei*'nin biyoaktif özellikleri incelenmiştir. Sonuçlar, makroalganın 6.77 ± 0.03 mg GAE/g toplam fenolik içerik (TPC) içerdiğini gösterdi. *H. durvillei*'nin antioksidan aktivitesi, sırasıyla 106 µg GAE/mL ve 20.44 µg GAE/mL IC₅₀ değeri ile güçlü ABTS⁺ radikal süpürme aktivitesi ve yüksek bakır indirgeme kapasitesi sergiledi. *H. durvillei* ekstraktının tirozinaz ve elastaz inhibisyon özelliklerinin *in vitro* değerlendirmesi, alg'in IC₅₀'si 40 µg GAE/mL ve IC₅₀'si 696 µg GAE/mL 'lik güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğunu ve kojik asit ve tokoferolden daha etkili olduğunu gösterdi. Ek olarak,

Yosunlar

α -amilaz inhibisyon özelliklerinin değerlendirilmesi, *H. durvillei* ekstraktının IC₅₀ değeri 56 µg GAE/mL olan güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğunu ve IC₅₀ değeri 101 µg/mL olan akarbozdan (standart anti-diyabetik ilaç) daha etkili olduğunu göstermiştir. Mevcut araştırma, yeni ilaçların sentezi için kullanılabilen farmasötik uygulama için *H. durvillei*'nin potansiyelini göstermektedir.

1. Introduction

Over the past few years, there has been an increasing demand to develop natural, cheap, and novel bioactive compounds that will address emerging diseases such as cancer, diabetes, and microbial infections (Sobuj et al., 2021). Natural bioactive compounds currently being screened for this purpose includes phenolic compounds, polysaccharides, essential oils, and bioactive peptides derived from seaweeds. Marine algae are rich sources of bioactive compounds since these organisms live in extreme environments where temperature, light, and salinity are constantly fluctuating (Arguelles and Sapin, 2021). Such conditions allowed seaweeds to develop diverse secondary metabolites that possess unique and potent biological activities. These metabolites are considered valuable bioactive substances that can be used as functional ingredients for food, industrial, and medical applications (Sari et al., 2019; Sobuj et al., 2021).

Halymenia durvillei Bory 1828 is a widely distributed seaweed belonging to Rhodophyta. It is characterized by having soft, flattened, and cartilaginous branches with cylindrical stipe. The branch of this seaweed is red to orange in color and is usually arranged as alternate or pinnate forming bushy clumps on solid rock surfaces (Trono, 1997). *H. durvillei* is considered as a high value marine algae because of its carrageenan content (Trono and Largo, 2019). This commercially important seaweed can also be an alternative source of active metabolites such as proteins, carotenoids, phenolic compounds, and arachidonic acid. These compounds have biological activities such as antioxidant, anti-diabetic, and antimicrobial activities that can be harnessed for pharmaceutical application. In addition, the natural pigment of *H. durvillei*, such as phycoerythrin, can also be produced and utilized as natural colorants for commercial application (Trono and Largo, 2019).

The Philippines, being at the center of the Coral Triangle, is known for its rich marine algal flora with diverse bioactive metabolites. However, only limited reports are available on the bioactive properties of seaweeds in the Philippines (Arguelles 2020; Magdugo et al., 2020; Arguelles and Sapin 2020a, b, c; Arguelles 2021b; Arguelles and Sapin, 2021). Thus, the current study aims to document some of the important biological properties of *H. durvillei* for potential medical application. The study specifically aims to evaluate the total polyphenolic content (TPC), antioxidant (using ABTS⁺ radical scavenging and copper reduction antioxidant capacity (CUPRAC) assays), anti-diabetic, as well as tyrosinase and elastase inhibition properties of *H. durvillei*. In addition, correlation analysis on the phenolic content of the seaweed extract and its antioxidant activities were also established.

2. Material and Methods

2.1. Seaweed sampling and collection

Fresh algal biomass of *Halymenia durvillei* Bory was collected on 08 March 2021 in the coast of Nasugbu (Lat. 14° 5' 31.4484" N; Long. 120° 37' 21.8382" E), Batangas, Philippines (Figure 1). The biomass was rinsed with sterile distilled water several times to remove epiphytes and sand particles in the algal sample. *Halymenia durvillei* was oven-drying at 60 °C for 12 hours and was pulverized (250–500 µm) before subjecting it for solvent extraction. The taxonomic identification of the seaweed was done using the taxonomic keys of Guiry and Guiry (2021) on Algae Base (web site: www.algaebase.org) and Trono (1997). The seaweed was verified by the algae curator of the National Institute of Molecular Biology and Biotechnology (BIOTECH), Laguna, Philippines.



Figure 1. Thallus morphology of *H. durvillei* from the coast of Nasugbu, Batangas.

2.2. Preparation of seaweed extract

Powdered algal biomass of *H. durvillei* (1 gram) was subjected to solvent extraction following the protocol of Gao *et al.*, (2002). The biomass was extracted using 30 mL acidified methanol (1 HCl: 80 CH₃OH: 10 H₂O) in an ultrasonic bath for 30 minutes with continuous stirring for 1 hour. The algal mixture was then centrifuged at 12,000 rpm for 20 minutes at a temperature of 20 °C. The harvested algal extract was further concentrated via rotary evaporator (BUCHI Rotavapor®) set at 40 °C under reduced pressure. The algal extract was placed under refrigerated conditions (4 °C) to preserve its biological activity for use in different biological assays included in the current study (Arguelles and Sapin, 2020a). The yield extract of *H. durvillei* was calculated using the equation:

$$\text{Yield (\%)} = \left(\frac{\text{Weight of the algal extract (g)}}{\text{Weight of the dried algal biomass (g)}} \right) \times 100 \quad (1)$$

2.3. Determination of total phenolic content (TPC)

The TPC of *H. durvillei* was analyzed via Folin-Ciocalteu assay following the methods of Nuñez-Selles *et al.*, (2002) and expressed as microgram (µg) of gallic acid equivalent (GAE) per gram of the seaweed biomass (calibration curve equation: $y = 0.006415x - 0.0140$, $R^2 = 0.99978$). Briefly, about 0.5 mL of *H. durvillei* extract was mixed with 0.5 mL 10% sodium carbonate solution and 0.5 mL of Folin-Ciocalteu's reagent for 1 minute. The sample mixture was mixed and set aside from at room temperature for 5 minutes. The volume of the mixture was adjusted using 5 mL distilled water. The absorbance reading of the sample and control were taken using an Ultraviolet-Visible spectrophotometer at a wavelength set at 720 nm.

2.4. ABTS⁺ (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) scavenging assay

The ABTS⁺ scavenging assay for *H. durvillei* was done following the procedure of by Re *et al.* (1999) with a few modifications in the procedure. Briefly, 40 µL of *H. durvillei* extract prepared in different concentrations (30.0 – 150.0 µg GAE/mL) and 40 µL of 90% methanol (control) were mixed with 3 mL of ABTS⁺ radical mixture with an initial absorbance reading of 0.72 ± 0.05 at 734 nm. The reaction mixtures were mixed and placed at ambient room temperature for 5 min. The absorbance readings of each prepared reaction sample solution were taken at 734 nm. ABTS⁺ inhibition (%) was noted using the equation:

$$Inhibition (\%) = \left(\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Where A_{sample} is the absorbance reading of the sample (algal extract) and $A_{control}$ is the absorbance reading of the control (ascorbic acid). The ABTS⁺ inhibition activity (%) was plotted with different prepared concentrations of *H. durvillei* extract. IC₅₀ of the seaweed extract is the concentration the seaweed extract that exhibited 50% ABTS⁺ radical scavenging activity.

2.5. Copper reduction antioxidant capacity (CUPRAC) assay

The copper reduction antioxidant capacity assay for *H. durvillei* extract was made using the methods of Alpinar *et al.*, (2009). In this assay, 1 mL each of 0.01 M CuCl₂ solution, 0.0075 M neocuproine, and 1 M ammonium acetate buffer (pH 7) were mixed in sterile test tubes containing 0.5 mL of *H. durvillei* extract (at a different prepared phenolic concentration) and ascorbic acid (control) (Arguelles *et al.*, 2019). The volume of the sample mixtures was adjusted (to 4.1 mL) using sterile distilled water and was kept at room temperature for 30 min. The absorbance reading for both the *H. durvillei* extract and ascorbic acid concentrations was noted at 450 nm (Arguelles, 2021a).

2.6. Tyrosinase inhibition assay

The whitening property of *H. durvillei* extract was evaluated *in vitro* using tyrosinase inhibition assay following the methods of Hapsari *et al.*, (2012). Solutions of mushroom tyrosinase (250 units/mL, Sigma T-3824), 5mM DOPA (3,4-dihydroxy-L-phenylalanine, Sigma D-9628), and 0.1M potassium phosphate buffer (pH 6.5) were prepared. Briefly, an aliquot of 40 μL DOPA is mixed with 40 μL of *H. durvillei* extract (at varying concentration: 15.0, 30.0, 45.0, 60.0, and 75.0 μg GAE/mL) or 40 μL buffer (for the control) in a microtiter plate. The total volume of each reaction sample mixture was adjusted to 160 μL by adding 40 μL of phosphate buffer and mushroom tyrosinase. The microtiter plate containing the mixtures was incubated at ambient temperature for 15 min. The absorbance reading was taken using a microtiter plate reader at a wavelength of 490 nm (Hapsari *et al.*, 2012). The percent tyrosinase inhibition was computed using the equation below:

$$Inhibition (\%) = \left(\frac{A_{control} - (A_{sample} - A_{blank})}{A_{control}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Where A_{sample} is the absorbance reading of the sample (seaweed extract), A_{blank} is the absorbance reading of the blank, and $A_{control}$ is the absorbance reading of the control. Kojic acid was used as the positive control in the assay.

2.7. Elastase inhibition assay

The anti-wrinkling property of *H. durvillei* extract was evaluated using elastase inhibition activity assay following the procedure of Moon *et al.*, (2010). Initially, solutions of elastase from porcine pancreas (50 ug/mL, Sigma E-7885), N-succinyl-(ALA)₃-p-nitroanilide (25 mM, Sigma S-4760), and 0.2M TRIS-HCl buffer (pH 8.0) were prepared. An aliquot (40 μL) of the *H. durvillei* extract or 40 μL buffer (control) was thoroughly mixed with 40 μL N-succinyl-(ALA)₃-p-nitroanilide in sterile test tubes. The volume of the reaction mixture was adjusted to 1 mL using phosphate buffer, and 40 μL elastase was added last in the solution. The blank (control) tube was the one that did not contain the enzyme solution. After 20 minutes of incubation, 2 mL of TRIS-HCl buffer were put in the reaction mixtures, and the absorbance reading of each sample was taken at 410 nm wavelength. The percent elastase inhibition was determined using the equation:

$$Inhibition (\%) = \left(\frac{A_{control} - (A_{sample} - A_{blank})}{A_{control}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Where A_{control} is the absorbance reading of the control, A_{blank} is the absorbance reading of the blank, and A_{sample} is the absorbance reading of the sample (algal extract). Tocopherol was used as the positive control in the assay.

2.8. α -amylase inhibition assay

The anti-diabetic properties of *H. durvillei* extract were assessed *in vitro* using α -amylase inhibition assay using the procedures of Phoboo (2015) with slight modifications. Initially, solutions of alpha-amylase from porcine pancreas (0.5 mg/mL, Sigma A3176), 0.02 M Sodium-phosphate buffer, pH 6.9 with 0.006M NaCl and 1% starch solution were prepared. Varying concentrations of *H. durvillei* extract (20.0, 40.0, 60.0, 80.0, and 100.0 μg GAE/mL) were prepared by dilution with water. To 50 μL of the alpha-amylase solution, 25 μL of *H. durvillei* extracts or 25 μL buffer (for the control) were thoroughly mixed in sterile test tubes. The total volume of the sample mixtures was adjusted up to 250 μL by adding 175 μL phosphate buffer. These mixtures were then added (at timed intervals) with 250 μL starch solution and were kept for 20 minutes. After incubation, the mixture was halted by adding 400 μL of dinitrosalicylic acid (DNS) color reagent (also added at timed intervals). The blank (control) used in the assay was consisted of 400 μL DNS reagent and 500 μL buffer. The reaction mixtures (in test tubes) were subjected to a boiling water bath for 5 minutes, cooled, and were further diluted with 5 mL sterile distilled water. The absorbance reading of the sample mixtures and control were taken at a 540 nm wavelength. The percent (%) inhibition was determined using the equation:

$$\alpha - \text{Amylase Inhibition (\%)} = \left(\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (5)$$

2.9. Statistical Analyses

The assays used in this study were done in three replicates, and the data were given as means \pm standard deviations. The correlation analysis among antioxidant activity and the phenolic concentration of *H. durvillei* extract using Pearson's correlation coefficient (r) was evaluated using Microsoft (MS) Office Excel 2007.

3. Results and Discussion

3.1. Extraction yield and TPC

Halymenia durvillei was extracted using acidified methanol (1:30) with stirring for 1 hour using an ultrasonic bath. To obtain the crude seaweed extract, the liquid soluble active constituents of the extract were concentrated and dried via a rotary evaporator. In this study, crude extract of *H. durvillei* was observed to have a reddish to brown color, which can be attributed to algal pigments such as phycoerythrin and other algal pigments present in the algal biomass (Sobuj et al., 2021). The extraction yield of *H. durvillei* crude extract is $14.91 \pm 0.02\%$. This yield is higher than those obtained by Boonchum *et al.*, (2017) from *Sargassum binderi*, *Tubinaria conoides*, *Amphiroa* sp., and *Halimeda macroloba* with extraction yields of 12.25%, 6.41%, 2.94%, and 2.52%, respectively. Variations in the extraction yield of *H. durvillei* as compared to other seaweeds previously reported may be due to factors such as extraction method and polarity of the solvent extractant, which are critical for large scale use of bioactive products that can be harnessed to *H. durvillei* (Boonchum et al., 2017).

Table 1. Total phenolic content and extraction yield of *Halymenia durvillei* acidified methanolic extract

Sample	Extract	Extraction Yield (%) ¹	Total Phenolic Content (mg GAE/g) ¹
<i>Halymenia durvillei</i>	Acidified Methanol	14.91 \pm 0.02	6.77 \pm 0.03

¹Mean \pm Standard deviation.

Seaweeds are good sources of phenolic compounds with potential pharmacological use. Phenolic compounds such as catechins (catechin gallate and epicatechin), flavonols, and phlorotannins were documented from red and brown seaweeds (Yoshie-Stark et al., 2003). These compounds are

considered valuable because of the reported antioxidant and antibacterial activities that can be used as active ingredients for novel drug synthesis (Yoshie-Stark et al., 2003; Mekinić et al., 2019). In addition, these biologically active algal metabolites act as defense mechanisms for adaptation against harsh conditions in the marine environment (Mekinić et al., 2019). The TPC of *H. durvillei* is 6.77 ± 0.03 mg GAE/g extract (Table 1). This result was greater than those observed from other seaweeds such as *Sargassum polycystum*, *Zonaria tournefortii*, *Fucus serratus*, and *Himanthalia elongata* with TPC of 0.37 mg GAE/g, 0.78 mg GAE/g, 4.0 mg GAE/g, and 5.48 mg GAE/g, respectively (O'Sullivan et al., 2011; Fu et al., 2015; Belda et al., 2016; Fellah et al., 2017). On the other hand, Chakraborty et al., (2013) showed that dichloromethane extracts of *Turbinaria conoides* and *Turbinaria ornata* have higher TPC than *H. durvillei*, which are 51.47 mg GAE/g, and 12.72 mg GAE/g, respectively. In general, the amount and kinds of phenolic compounds in algal biomass is highly affected by the age and maturity of the seaweed as well as the type and polarity of solvent used in the extraction (Mekinić et al., 2019).

3.2. ABTS⁺ scavenging activity

Phenolic compounds are potent free-radical scavengers since these compounds possess reducing properties that serve as electron or hydrogen donating agents (Boonchum et al., 2011; Orak, et al., 2021). In this study, *H. durvillei* exhibited potent ABTS⁺ radical scavenging activity, more efficient than ascorbic acid (Table 2). The ABTS⁺ scavenging activity of the algal extract exhibited inhibition of ABTS⁺ free radicals in a concentration-dependent manner. The computed effective concentration (IC₅₀) of *H. durvillei* extract is 106 µg/mL, which is more effective as compared to ascorbic acid with IC₅₀ value of 151 µg/mL. This antioxidant activity is considered more potent than that obtained for methanol extracts of *Padina tetrastromatica* (IC₅₀ value of 1.33 ± 0.09 mg/mL) and *Gracilaria tenuistipitata* (IC₅₀ value of 3.01 ± 0.10 mg/mL) (Sobuj et al., 2021). However, ABTS⁺ scavenging activity of *H. durvillei* is less effective as compared to *Turbinaria decurrens* with IC₅₀ value of 49.31 µg/mL (Arguelles and Sapin, 2020a). The polarity of the solvent extractant and the method of extraction are critical factors in determining the amount and activity of polyphenols that can be obtained from a seaweed sample. In general, polar solvents (e.g. methanol) are effective extractants of phenolic compounds since these solvent can inhibit and suppress the activity of polyphenol oxidase (Boonchum et al., 2011; Sobuj et al., 2021).

Table 2. ABTS⁺ radical scavenging activity and IC₅₀ value of *H. durvillei* extract and ascorbic acid

<i>Halymenia durvillei</i>		Ascorbic Acid**	
Phenolic concentration (µg GAE/mL)	ABTS ⁺ Inhibition (%) ¹	Concentration (µg/mL)	ABTS ⁺ Inhibition (%) ¹
30	18.00 ± 1.19	37.5	14.34 ± 0.49
60	34.04 ± 0.00	75.0	25.82 ± 0.00
90	45.15 ± 0.80	112.5	38.07 ± 0.20
120	54.36 ± 1.29	150.0	49.69 ± 0.10
150	64.70 ± 0.99	187.5	62.70 ± 0.79
IC₅₀*	106 µg/mL	IC₅₀*	151 µg/mL

*IC₅₀ is the concentration that effectively inhibits the activity of ABTS⁺ cation radical by 50%. Computed by interpolation.

**A reference antioxidant.

¹Mean± Standard deviation.

3.3. Copper reduction antioxidant capacity (CUPRAC)

CUPRAC method is a redox reduction assay between CUPRAC reagent (cupric neocuproine) and antioxidants (in the algal extract) producing Cu(I)-neocuproine chromophore, which is measured spectrophotometrically (Arguelles, 2021a). *Halymenia durvillei* extract exhibited a concentration-dependent copper ion reduction ability which is similar to that observed for ABTS⁺ scavenging assay wherein at high phenolic concentration, the highest ABTS⁺ free radical inhibition was observed. Table 3 shows that *H. durvillei* extract exhibited potent antioxidant activity more effective than ascorbic acid with IC₅₀ value of 20.44 µg/mL. Also, *H. durvillei* is more effective than that obtained for *Turbinaria ornata* from the coast of Catanauan, Quezon, with IC₅₀ value of 24.34 µg/mL (Arguelles and Sapin, 2020c). The study shows the potential of *H. durvillei* extract as an effective inhibitor of oxidation (via

metal chelation mechanism). This activity is possibly associated with polyphenols (e.g. quercetin and gallic acids) present in *H. durvillei* extract, which are known metal chelators (Arguelles and Sapin, 2020c).

Table 3. Copper reduction antioxidant capacity and IC₅₀ value of *H. durvillei* extract and ascorbic acid

<i>Halymenia durvillei</i>		Ascorbic Acid**	
Phenolic concentration (µg GAE/mL)	CUPRAC value (Absorbance at 450 nm) ¹	Concentration (µg/mL)	CUPRAC value (Absorbance at 450 nm) ¹
5.0	0.114 ± 0.002	10.0	0.114 ± 0.001
10.0	0.263 ± 0.003	20.0	0.232 ± 0.002
15.0	0.382 ± 0.001	30.0	0.347 ± 0.001
20.0	0.490 ± 0.004	40.0	0.454 ± 0.008
25.0	0.603 ± 0.000	50.0	0.566 ± 0.005
IC₅₀*	20.44 µg/mL	IC₅₀*	44.12 µg/mL

*IC₅₀ is the concentration that gives a CUPRAC value of 0.5 at a wavelength of 450 nm. Computed by interpolation.

**A reference antioxidant.

¹Mean± Standard deviation.

3.4. Correlation study between TPC and antioxidant activity

The correlation analysis among phenolic concentrations in the algal extract and antioxidant activities of *H. durvillei* using ABTS⁺ scavenging and CUPRAC assays are presented in Table 4. Results showed a positive correlation exists for ABTS⁺ (r=0.9938) and CUPRAC (r=0.9979) and phenolic concentration of the *H. durvillei* extract. This correlation is similar to previous studies that reported positive correlations among antioxidant activities and phenolic concentration from several species of seaweeds such as *Sargassum ilicifolium*, *Codium intricatum*, *Sargassum siliquosum*, *Sargassum vulgare*, and *Turbinaria decurrens* (Arguelles et al., 2019; Arguelles, 2020; Arguelles, 2021b; Arguelles and Sapin, 2020a,b). Furthermore, the positive correlation between CUPRAC and ABTS⁺ antioxidant activities and phenolic concentrations in *H. durvillei* extract shows that polyphenols are responsible for the antioxidant activity of the seaweed. Thus, isolation and identification of these compounds are necessary to deepen our understanding of the potent antioxidant activities of the algal extract.

Table 4. Correlation between phenolic content and antioxidant activities of *Halymenia durvillei* extract

Antioxidant Assay	Correlation Coefficient (r)	p-value*
ABTS ⁺ Radical Scavenging Assay	0.9938	0.000592
Copper Reduction Antioxidant Capacity (CUPRAC) Assay	0.9979	0.000116

*Correlation is significant at p<0.05.

3.5. Tyrosinase inhibition activity

Seaweeds are known sources of skin whitening ingredients that can be tapped for cosmeceutical application (Sari et al., 2019). In this investigation, the whitening ability of *H. durvillei* extract was evaluated *in vitro* via inhibition of tyrosinase. Tyrosinase is an important enzyme that controls monophenolase and diphenolase reactions in melanin synthesis. Thus, inhibition of this enzyme can reduce the formation of melanin that leads to brown pigmentation (Arguelles, 2021b). *Halymenia durvillei* extract exhibited potent tyrosinase inhibition in a dose-dependent manner (Table 5). The computed IC₅₀ of *H. durvillei* extract is 40 µg/mL, which is more effective than the control (kojic acid) with IC₅₀ value of 113 µg/mL. *H. durvillei* extract is also more effective than those obtained from extracts of *Turbinaria ornata* and *Turbinaria conoides* with IC₅₀ values of 67.5 µg/mL, and 188.5 µg/mL, respectively (Sari et al., 2019; Arguelles, 2021b). The result of this essay suggests that *H. durvillei* extract contains bioactive substances (such as phenolic compounds) with potent anti-melanogenic activities. Phenolic compounds are known tyrosinase inhibitors capable of causing conformational changes in the active site of tyrosinase, leading to the inactivation of the enzyme (Susano et al., 2021). The differences in the potency of the different seaweed extracts in inhibiting tyrosinase are

caused by factors such as extraction protocol, the polarity of the solvent, age, and maturity of the alga, which are being considered in the assay. Variations in these parameters can cause differences in the amount and types of bioactive substances that are present in the crude extract of the alga, causing differences in the activity and effectiveness of the extract (Dolorosa et al., 2019).

Table 5. Tyrosinase inhibition activity and IC₅₀ value of *H. durvillei* extract and kojic acid

<i>Halymenia durvillei</i>		Kojic Acid**	
Phenolic concentration (µg GAE/mL)	Tyrosinase Inhibition (%) ¹	Concentration (µg/mL)	Tyrosinase Inhibition (%) ¹
15.0	25.84 ± 0.99	50.0	27.81 ± 0.77
30.0	38.19 ± 0.71	100.0	46.20 ± 0.36
45.0	55.43 ± 0.64	150.0	60.66 ± 0.22
60.0	66.37 ± 1.16	200.0	68.39 ± 0.31
75.0	75.93 ± 2.50	250.0	73.98 ± 0.01
IC₅₀*	40 µg/mL	IC₅₀*	113 µg/mL

* IC₅₀ is the inhibitory concentration that effectively inhibits tyrosinase activity by 50%. Computed by interpolation.

** A reference tyrosinase inhibitor and known whitening agent.

¹Mean ± Standard deviation.

3.6. Elastase inhibition activity

Seaweeds that have collagenase and elastase inhibitory properties, which degrade collagen fibers and elastin, might play an important pharmaceutical application against skin aging (Sari et al., 2019). Bioactive compounds derived from these seaweeds can be further developed as cheap, alternative sources of active ingredients for cosmetic use. The anti-aging activity of *H. durvillei* extract was evaluated *in vitro* via elastase inhibition assay. Results showed that *H. durvillei* extract exhibited the highest inhibition activity at 700 µg GAE/mL with a percent inhibition of 50.40 ± 0.19% (Table 6). The IC₅₀ of *H. durvillei* extract is 696 µg/mL, which is considered more potent than tocopherol with IC₅₀ value of >2500 µg/mL. However, it is less potent than that observed for *Sargassum aquifolium*, which reported an IC₅₀ value of 231 µg/mL (Arguelles and Sapin, 2021). Phenolic compounds derived from seaweeds are known elastase inhibitors. These compounds can inhibit metalloproteinase in human dermal fibroblast cells and prevents the synthesis of elastase in the skin (Jesumani et al., 2019). The current study shows that the crude extract of *H. durvillei* may contain phenolic compounds with potent elastase inhibition properties. Thus, suggesting that elastase inhibitors are promising target compounds that can be harnessed in *H. durvillei* for cosmeceutical application.

Table 6. Elastase inhibition activity and IC₅₀ value of *H. durvillei* extract and tocopherol

<i>Halymenia durvillei</i>		Tocopherol***	
Phenolic concentration (µg GAE/mL)	Elastase Inhibition (%) ¹	Concentration (µg/mL)	Elastase Inhibition (%) ¹
300.0	9.83 ± 1.58	500.0	16.58 ± 0.19
400.0	17.65 ± 0.51	1000.0	19.35 ± 0.06
500.0	24.80 ± 0.37	1500.0	26.08 ± 1.13
600.0	39.64 ± 1.21	2000.0	31.03 ± 0.95
700.0	50.40 ± 0.19	2500.0	38.22 ± 0.37
IC₅₀*	696 µg/mL	IC₅₀*	>2500 µg/mL**

* IC₅₀ is the concentration that effectively inhibits elastase activity by 50%. Computed by interpolation.

** IC₅₀ was not determined because 50% inhibition was not achieved at 2500 µg/mL concentration.

*** A reference standard elastase inhibitor.

¹Mean ± Standard deviation.

3.7. Anti-diabetic activity

Controlling blood glucose levels in patients with diabetes is an essential step in minimizing vascular complications. Hyperglycemia is controlled via inhibition of degrading starch enzymes such as α-amylase (Poulose et al., 2021). In this study, evaluation of the potential anti-diabetic property of *H. durvillei* was done *in vitro* via α-amylase inhibition assay. The inhibition property of *H. durvillei* extract

on the target enzyme is shown in Table 7. The algal extract exhibited a concentration-dependent reduction in α -amylase inhibition. *Halymenia durvillei* extract exhibited the highest inhibition of α -amylase ($78.18 \pm 0.15\%$) at phenolic extract concentration of $100 \mu\text{g GAE/mL}$. *Halymenia durvillei* extract has potent α -amylase inhibition property (IC_{50} of $56 \mu\text{g/mL}$) more efficient than the standard anti-diabetic drug, acarbose with IC_{50} of $101 \mu\text{g/mL}$. The IC_{50} value of *H. durvillei* towards α -amylase is more potent as compared to that observed for *Gelidium spinosum* with IC_{50} value of $89.27 \mu\text{g/mL}$. However, it is less effective than *Ascophyllum nodosum* extract, which exhibited IC_{50} of $53.6 \mu\text{g/mL}$. (Lordan et al., 2013 ; Poulouse et al., 2021). Generally, seaweeds are rich sources of antioxidants with anti-diabetic properties. Several compounds such as pigments (carotenoids and fucoxanthin) and phenolic compounds (i.e., tannins, and phenolic acids) are reported to have α -amylase inhibition activities (Kim et al., 2021). Thus, phenolic compounds in these seaweeds can be tapped as novel sources of bioactive substances for pharmaceutical application.

Table 7. α -amylase inhibition and IC_{50} of *H. durvillei* extract and acarbose

<i>Halymenia durvillei</i>		Acarbose**	
Phenolic concentration ($\mu\text{g GAE/mL}$)	α -amylase inhibition (%) ¹	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	α -amylase inhibition (%) ¹
20.0	16.25 ± 1.09	60.0	34.16 ± 0.76
40.0	39.18 ± 2.36	120.0	57.45 ± 0.20
60.0	51.81 ± 1.45	180.0	71.03 ± 0.66
80.0	63.83 ± 1.71	240.0	79.40 ± 0.20
100.0	78.18 ± 0.15	300.0	84.89 ± 0.40
IC_{50}*	$56 \mu\text{g/mL}$	IC_{50}*	$101 \mu\text{g/mL}$

* IC_{50} is the concentration that effectively inhibits α -amylase activity by 50%. Computed by interpolation.

**A reference standard antidiabetic drug.

¹Mean \pm Standard deviation.

4. Conclusion

In the Philippines, biotechnological studies on the use of seaweeds for pharmacological application remain poorly understood. This study documented that *Halymenia durvillei* extract exhibited promising bioactivities such as alpha-amylase, elastase, and tyrosinase inhibition properties, as well as antioxidant activity. It is recommended that additional studies on the identification of the active compounds (via High Performance Liquid Chromatography or Liquid Chromatography-Mass Spectrometry), as well as elucidation of the reaction mechanisms, involved in these active substances, should be done to further support the findings of the study. The role of other compounds such as phycoerythrin should also be analyzed in the sample to show its relationship to the reported biological activities of *H. durvillei*. Correlation studies on the activity of phycoerythrin in relation to the biological activities exhibited by the extract can lead to a proposal of a possible mechanism by which these activities are exhibited by the seaweed. In addition, *in vivo* experimental trials are needed to confirm the safety and effectivity of *H. durvillei* extract as potential active ingredients for medicinal use.

Acknowledgements

The author acknowledges PNCM and Food Laboratory of BIOTECH-UPLB for the support given during the conduct of the study. The author is also thankful to Mrs. Arsenia B. Sapin for her technical assistance in the conduct of the assays needed in the study. Lastly, the constructive comments and suggestions of the blind reviewers for the improvement of the paper are acknowledged with sincere gratitude.

References

Alpinar, K., Özyurek, M., Kolak, U., Guclu, K., Aras, Ç., Altun, M., Celik, S.E., Berker, K.I., Bektasoglu, B., & Ampal, R. (2009). Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in Ayvalik of Turkey. *Food Science and Technology Research*, 15 (1), 59 – 64.

- Arguelles E.D.L.R. (2020). Evaluation of nutritional composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of *Codium intricatum* Okamura from Ilocos Norte (Philippines). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 13(3),375-382.
- Arguelles, E.D.L.R. (2021a). Biochemical composition and bioactive properties of *Chlorella minutissima* (Chm1) as a potential source of chemical compounds for nutritional feed supplement and disease control in aquaculture. *Current Applied Science and Technology*, 21(1), 65-77.
- Arguelles, E.D.L.R. (2021b). Evaluation of antioxidant capacity, tyrosinase inhibition, and antibacterial activities of brown seaweed, *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh 1820 for cosmeceutical application. *Journal Fisheries and Environment*, 45(1), 64-77.
- Arguelles, E.D.L.R., & Sapin, A.B. (2020a). *In vitro* antioxidant, alpha-glucosidase inhibition and antibacterial properties of *Turbinaria decurrens* Bory (Sargassaceae, Ochrophyta). *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 25(3), <https://so01.tci-thaijo.org/index.php/APST/article/view/240714/165247>.
- Arguelles, E.D.L.R., & Sapin, A.B. (2020b). Bioactive properties of *Sargassum siliquosum* J. Agardh (Fucales, Phaeophyta) and its potential as source of skin-lightening active ingredient for cosmetic application. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 10(7), 51-58.
- Arguelles, E.D.L.R., & Sapin, A.B. (2020c). Bioprospecting of *Turbinaria ornata* (Fucales, Phaeophyceae) for cosmetic application: antioxidant, tyrosinase inhibition and antibacterial activities. *Journal of the International Society of Southeast Asian Agricultural Sciences*, 26(2), 30-41.
- Arguelles, E.D.L.R., & Sapin, A.B. (2021). Chemical Composition and Bioactive Properties of *Sargassum aquifolium* (Turner) C. Agardh and Its Potential for Pharmaceutical Application. *Philippine Journal of Science*, 151 (S1), 9-24.
- Arguelles, E.D.L.R., Monsalud, R.G., & Sapin, A.B. (2019). Chemical composition and *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of *Sargassum vulgare* C. Agardh from Lobo, Batangas, Philippines. *Journal of the International Society of Southeast Asian Agricultural Sciences*, 25(1), 112-122.
- Belda, M., Sanchez, D., Bover, E., Prieto, B., Padrón, C., Cejalvo, D., & Lloris, J.M. (2016). Extraction of polyphenols in *Himanthalia elongata* and determination by high performance liquid chromatography with diode array detector prior to its potential use against oxidative stress. *Journal of Chromatography B*, 1033, 334–341.
- Boonchum, W., Peerapornpisal, Y., Kanjanapothi, D., Pekkoh, J., Pumas, C., Jamjai, U., Amornlerdpison, D., Noiraksar, T., & Vacharapiyasophon, P. (2011). Antioxidant activity of some seaweed from the Gulf of Thailand. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13, 95–99.
- Chakraborty, K., Praveen, N.K., Vijayan, K.K., & Rao, G.S. (2013). Evaluation of phenolic contents and antioxidant activities of brown seaweeds belonging to *Turbinaria* spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) collected from Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 8–16.
- Dolorosa, M.T., Nurjana, N., Purwaningsih, S., Anwar, E., & Hidayat, T. (2019). Tyrosinase inhibitory activity of *Sargassum plagyophyllum* and *Euचेuma cottonii* methanol extracts. In *IOP Conf Series: Earth and Environmental Science*, (pp. 2-8) doi:10.1088/1755-1315/278/1/012020
- Fellah, F., Louaileche, H., Dehbi-Zebboudj, A., & Touati, N. (2017). Seasonal variations in the phenolic compound content and antioxidant activities of three selected species of seaweeds from Tiskerth islet, Bejaia, Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8, 4451–4456.
- Fu, C.W.F., Ho, C.W., Yong, W.T.L., Abas, F., & Tan, C.P. (2015). Effects of phenolic antioxidants extraction from four selected seaweeds obtained from Sabah. *PeerJ PrePrints*, 3, e1249v1.
- Gao, L., Wang, S., Oomah, B.D., & Mazza, G. (2002). Wheat quality: Antioxidant activity of wheat millstreams. In: Ng, P., Wrigley, C.W. (Eds.). *Wheat Quality Elucidation*. (p. 219-233). St. Paul, Minnesota. AACC International.
- Guiry, M.D., & Guiry, G.M. (2021). AlgaeBase. National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>. Retrieved on 28.10.2021.

- Hapsari, R., Elya, B., & Amin, J. (2012). Formulation and evaluation of antioxidant and tyrosinase inhibitory effect from gel containing the 70% ethanolic *Pleurotus ostreatus* extract. *International Journal of Medicinal Aromatic Plants*, 2(1), 135-140.
- Jesumani, V., Du, H., Aslam, M., Pei, P., & Huang, N. (2019). Potential use of seaweed bioactive compounds in skincare—A Review. *Marine Drugs*, 17(12), 688. <https://doi.org/10.3390/md17120688>
- Kim, E., Cui, J., Kang, I., Zhang, G., & Lee, Y. (2021). Potential antidiabetic effects of seaweed extracts by upregulating glucose utilization and alleviating inflammation in C2C12 myotubes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 1367. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031367>.
- Lordan, S., Smyth, T.J., Soler-Vila, A., Stanton, C., & Ross, R.P. (2013). The α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chemistry*, 141(3), 2170-2176
- Magdugo, R.P., Terme, N., Lang, M., Pliego-Cortés, H., Marty, C., Hurtado, A.Q., Bedoux, G., & Bourgougnon, N. (2020). An analysis of the nutritional and health values of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) and *Ulva lactuca* (Linnaeus) – two Chlorophyta collected from the Philippines. *Molecules*, 25(12), 2901. <https://doi.org/10.3390/molecules25122901>,
- Mekinić, I.G., Skroza, D., Šimat, V., Hamed, I., Čagali, M., & Perković, Z.P. (2019). Phenolic Content of Brown Algae (Pheophyceae) Species: Extraction, Identification, and Quantification. *Biomolecules*, 244. doi:10.3390/biom9060244.
- Moon, J.Y., Yim, E.Y., Song, G, Lee, N.H., & Yun, C.G. (2010). Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsian Journal Bioscience*, 4,41-53.
- Núñez Selles, A., Castro, H.T.V., Agüero, J.A., Gonzalez, J.G., Naddeo, F., De Simone, F., & Pastrelli, L. (2002). Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as a nutritional supplement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50,762-766.
- Orak, H. H., Karamač, M., Orak, A., Tenikecier, H. S. & Amarowicz, R. (2021). Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of Different Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties Grown in Turkey. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 31(4), 995-1000. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.946487>.
- O’Sullivan, A.M., O’Callaghan, Y.C., O’Grady, M.N., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D.J., Kerry, J.P., & O’Brien, N.M. (2011). In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chemistry*, 126, 1064–1070.
- Phoboo, S. (2015). *In vitro* assays of anti-diabetic and anti-hypertensive potential of some traditional edible plants of Qatar. *Journal of Medicinally Active Plants*, 4, 22-29.
- Poulose, N., Sajaya, A., Ravindran, A., Chandran, A., Priyadharshini, G.P., Selvin, J., & Kiran, G.S. (2021). Anti-diabetic potential of a stigmaterol from the seaweed *Gelidium spinosum* and its application in the formulation of nanoemulsion conjugate for the development of functional biscuits. *Frontiers in Nutrition*. 8, 694362. doi: 10.3389/fnut.2021.694362.
- Re, R., Pellegrine, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26,1231-1237.
- Sari, D.M., Anwar, E., Nurjanah, N., & Arifianti, A.E. (2019). Antioxidant and tyrosinase inhibitor activities of ethanol extracts of brown seaweed (*Turbinaria conoides*) as lightening ingredient. *Pharmacognosy Journal*, 11(2),379–82.
- Sobuj, M.K.A., Islam, M.A., Islam, M.S., Islam, M.S., Islam, M.S., Mahmud, Y., & Rafiquzzaman, S.F. (2021). Effect of solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of *Padina tetrastromatica* and *Gracilaria tenuistipitata* seaweeds collected from Bangladesh. *Scientific Reports*, 11, 19082, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98461-3>.
- Susano, P., Silva, J., Alves, C., Martins, A., Gaspar, H., Pinteus, S., Mouga, T., Goettert, M.I., Petrovski, Ž., Branco, L.B., & Pedrosa, R. (2021). Unravelling the dermatological potential of the brown seaweed *Carpomitra costata*”, *Marine Drugs*, 19, 135. <https://doi.org/10.3390/md19030135>.
- Trono, G.C. Jr. (1997). *Field Guide and Atlas of the Seaweed Resources of the Philippines* (p.978). Manila: Bookmark Inc.

- Trono, G.C., & Largo, D.B. (2019). The seaweed resources of the Philippines. *Botanica Marina*, 62, 483–498.
- Yoshie-Stark, Y., Hsieh, Y.P., & Suzuki, T. (2003). Distribution of flavonoids and related compounds from seaweeds in Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 89,1-6.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Optimization of Media Composition for Maximum Growth of Probiotic *Lactobacillus fermentum* NBC-08 Using Response Surface Methodology

Akif Emre KAVAK^{*1}, Veyis SELEN², Faruk TAMTÜRK³

^{1,3} Nuvita Biosearch R&D Center, Akçaburgaz Mahallesi 153rd Street Esenyurt / İstanbul, Turkey

² Department of Bioengineering, Firat University, 23279 Elazığ, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-7022-4614>, ²<https://orcid.org/0000-0003-0016-0840>, ³<https://orcid.org/0000-0003-2050-8250>

*Corresponding author e-mail: akif.kavak@nuvita.com.tr

Article Info

Received: 10.09.2021

Accepted: 10.02.2022

Online Published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.993781

Key words

Lactic Acid Bacteria,
Probiotic,
Fermentation,
Food Biotechnology,
Response Surface
Methodology

Abstract: In this study, it was aimed to determine the medium where *Lactobacillus fermentum* microorganisms with probiotic properties grow most efficiently by using Response Surface Method (RSM). Studies have been conducted on a 500 ml erlenmeyer scale, the medium optimization of the *Lactobacillus fermentum* strain was carried out according to the Central Composite Design (CCD) included in RSM. The effects of glucose, yeast extract, inorganic salts, and Tween 80 were investigated on the growth rate of the *L. fermentum* NBC-08 strain. Samples were taken at regular intervals from the erlenmeyer flask and the number of viable cells was measured by planting them in petri agar medium. In the study, the number of viable cells log₁₀ (cfu/ml) was chosen as the response variable. As a result of the study, it was concluded that glucose and yeast extract are absolutely essential components in the medium. The optimum medium composition was found as 96.06 g/L glucose, 40.76 g L⁻¹ yeast extract, 19.43 g L⁻¹ inorganic salts, and 11.01 ml/L Tween 80. The production of the maximum *L. fermentum* strain was determined as 10.75 log₁₀ (cfu ml⁻¹). It is predicted that this study will make positive contributions to the fermentation conditions and medium optimization studies for production of lactic acid bacteria.

To Cite: Kavak, A E, Selen, V, Tamtürk F, 2022. Optimization of Media Composition for Maximum Growth of Probiotic *Lactobacillus fermentum* NBC-08 Using Response Surface Methodology. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 69-80. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.993781>

Cevap Yüze Yöntemi Kullanılarak Probiyotik *Lactobacillus fermentum* NBC-08 Maksimum Büyümesi İçin Ortam Bileşiminin Optimizasyonu

Makale Bilgileri

Geliş: 10.09.2021

Kabul: 10.02.2022

Online Yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.993781

Anahtar Kelimeler

Laktik Asit Bakterisi,
Probiyotik,
Fermantasyon,
Gıda Biyoteknolojisi,
Cevap Yüze Yöntemi

Öz: Bu çalışmada probiyotik özelliklere sahip *Lactobacillus fermentum* mikroorganizmasının en verimli olarak büyüdüğü optimum besiyeri bileşimi Cevap Yüze Yöntemi (CYY) kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmalar 500 ml hacminde erlen ölçeğinde yapılmış olup *Lactobacillus fermentum* suşunun besiyeri optimizasyonu CYY içerisinde yer alan Merkezi Kompozit Tasarım (MKT)'a göre gerçekleştirilmiştir. *L. fermentum* NBC-08 suşunun büyüme miktarı üzerine glikoz, yeast extract, inorganik tuzlar ve Tween-80'in etkisi incelenmiştir. Erlenlerden belirli aralıklarla numuneler alınmış ve petri agar ortamına ekilerek canlı hücre sayılarına bakılmıştır. Çalışmada cevap değişkeni olarak canlı hücre sayısı log₁₀ (cfu/ml) seçilmiştir. Çalışma sonucunda besiyer ortamında glikoz ve maya ekstraktının kesinlikle bulunması gereken bileşenler

olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Optimum besi yeri bileşimi 96.06 g/L glikoz, 40.76 g/L yeast ekstrakt, 19.43 g/L inorganik tuzlar ve 11.01 ml/L Tween 80 olarak bulunmuştur. Maksimum *L. fermentum* suşunun üretimi ise 10.75 log₁₀ (cfu/ml) şeklinde bulunmuştur. Bu çalışmanın laktik asit bakterilerinin fermantasyon yolu ile üretilmesi ve probiyotik suşların besi yeri optimizasyonu çalışmalarına olumlu katkılar yapacağı ön görülmektedir.

1. Introduction

Probiotics are defined as living microorganisms that cause positive effects on host health when consumed in certain amounts (Anvari et al., 2014). Probiotics affect the host by regulating mucosal and systemic immunity and are thus beneficial microorganisms. Most probiotic bacteria are gram-positive, and their main functions are related to the maintenance of intestinal system health (Marco et al., 2006). Lactic acid bacteria constitute the most important group of probiotic microorganisms. Among the lactic acid bacteria (LAB), *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species stand out as the most widely used as a probiotic (Iranmanesh et al., 2014). LAB is an important group of fermentative bacteria that are widely used as starter cultures for the production of fermented foods both at home and in industry, and it is also part of the normal intestinal microflora (Pithva et al., 2014). Numerous studies have shown that LAB has a wide application area as a probiotic organism and provides beneficial effects to humans and animals (Lee et al., 2010; Shamekhi et al., 2012; Kaewnopparat et al., 2013). The beneficial effects of LAB on human health and intestinal microbial balance stand out as valuable probiotic properties. *Lactobacillus* strains are characterized by their ability to adhere to and colonize the intestinal mucous layer and to produce antimicrobial agents (Belova et al., 2016; Boricha et al., 2019; Ozkan et al., 2020; Teame et al., 2020). These properties allow probiotic strains to compete with gastrointestinal tract pathogens and food degrading pathogens (Bove et al., 2013). LAB species were listed in the qualified presumption of safety published by the European Food Safety Authority (EFSA) and generally recognized as safe (GRAS) by the US Food and Drug Administration (FDA) (Ricci et al., 2017).

Lactobacillus fermentum is a bacterium with probiotics including health-promoting effects, and it widely inhabits the human gastrointestinal and urogenital tracts. It is present naturally in raw milk, dairy products, and many traditional fermented foods and beverages. *L. fermentum* bacteria is a microorganism whose main task is to produce lactic acid (Ramos et al., 2013). It is considered as beneficial for developing various methods to ensure that large quantities of *L. fermentum* biomass can be produced effectively and cost-effectively. Optimization of the culture medium to obtain high-quality probiotic products is one of the most important steps in improving the efficiency of the production process in terms of both economic and yield-related aims. (Gao et al., 2009).

Many studies have been conducted related to *L. fermentum* strain isolated from breast milk. Also, there have been studies that showed *L. fermentum* strain has various benefits on the gastrointestinal system and cholesterol-lowering effects (Gil-Campos et al., 2012; Maldonado et al., 2012; López-Huertas, 2015; Asan-Ozusaglam and Gunyakti, 2019).

Response Surface Methodology (RSM) is a set of mathematical and statistical techniques useful for analyzing the relationship between several independent variables and one or more responses. (Liew et al., 2005; Kanmani et al., 2012). Compared to traditional methods, RSM has many advantages, such as requiring a minimum number of experiments, lower processing costs, and using fewer medium components (Rodrigues et al., 2006). Additionally, unlike traditional methods, RSM shows the combined effects of all independent variables on response variables (Anvari et al., 2014). Recently, RSM has been widely used in many bioprocessing studies, including modeling and optimization of culture media (Stephenie et al., 2007; Shang et al., 2013; Thite et al., 2020).

The *L. fermentum* NBC-08 strain used in this study was isolated from breast colostrum milk. *L. fermentum* NBC-08 strain is a local probiotic strain originating from Turkey. In addition, the low-cost medium developed in this study can be used on an industrial scale. This aspect makes the study original and significant. In this study, optimization of media components for the maximum growth of *L. fermentum* NBC-08 probiotic strain isolated from breast milk colostrum was performed using the RSM.

2. Material and Method

2.1. Microorganism

The *Lactobacillus fermentum* NBC-08 strain used in this study was isolated from breast colostrum milk by Orzax Pharmaceuticals and Chemical Industry Trade Corporation in a project within the scope of the R&D Support Program supported by the General Directorate of Agricultural Research and Policies (TAGEM). The characterization and reliability tests of this strain were performed by Orzax Company. *L. fermentum* NBC-08 strain was identified on the basis of genus and species by the MALDI-TOF MS method. The *L. fermentum* NBC-08 strain bile tolerance, gastric acid resistance, lysozyme tolerance, and intestinal adhesion tests were applied for the determination of the probiotic character of the bacteria.

2.2. Substrates and Chemicals

In this study, glucose as carbon source, yeast extract as organic nitrogen source, and inorganic salts (sodium acetate, potassium dihydrogen phosphate, magnesium sulphate, and manganese (II) sulphate) which are thought to be needed for the growth of microorganisms and Tween 80, were used to provide a rich culture growth medium. All chemicals used in the experiments are of analytical purity.

2.3. Microorganism growth medium and conditions

Lactobacillus fermentum strain was taken from 20% (v/v) glycerol stock and first inoculated into MRS broth (Table 1) medium, and its growth was achieved in a shaking incubator at 37 °C and 200 rpm agitation speed for 24 hours. Bacterial cultures that completed their pre-development were cultivated in MRS Agar (Table 1) culture storage medium by spreading with drigalski spatula and kept in an incubator at 37 °C for 48 hours. *L. fermentum* strain in petri dishes was inoculated into 500 ml erlenmeyer flasks containing 100 ml of bacteria growth medium with the help of a sterile spatula (loop). At the end of the incubation period, petri dishes were kept at +4 °C, and the cultures were renewed once every 15 days. The *L. fermentum* strain used in each stage of the study was inoculated in two stages. First, the *L. fermentum* strain taken from the culture storage medium was inoculated in the bacteria growth medium and then *L. fermentum* strain taken from bacteria growth medium was inoculated in the production medium.

Table 1. MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) broth medium composition

Component	Storage Medium (g L ⁻¹)	Growth medium (g L ⁻¹)
Glucose	20	20
Peptone	10	10
Meat Extract	8	8
Yeast Extract	4	4
Sodium Acetate (C ₂ H ₃ NaO ₂)	5	5
Dipotassium hydrogen phosphate (K ₂ HPO ₄)	2	2
Triammonium citrate (C ₆ H ₁₇ N ₃ O ₇)	2	2
Magnesium sulphate (MgSO ₄)	0.2	0.2
Manganese sulphate(MnSO ₄)	0.05	0.05
Tween 80	1	1
Agar	15	

MRS broth medium of 100 ml was put into 500 ml erlenmeyer flasks. The initial pH of the bioprocess media was adjusted to a value of 6.0 by using 0.1 N HCl and 0.1 N NaOH. The brim of the erlenmeyer flasks was sealed with a plug made of cotton and gauze, and the top of the plug was covered with aluminum foil. The medium prepared in this way was sterilized with an autoclave (Alp CL40, Japan) for 20 minutes at 121 °C and 1.2 bar pressure. The sterilized media was cooled to ambient

temperature in laminar flow. 1% of the *L. fermentum* strain in the growth medium was inoculated into growth media of different compositions. The growth of bacteria was ensured for 18 hours in the culture inoculated into the erlenmeyer flasks at 37 °C and in a shaker with an orbital incubator (Stuart SI600, United Kingdom) with an agitation speed of 200 rpm.

2.4. Experimental Design

Four of the medium components (glucose concentration (g L⁻¹), yeast extract concentration (g L⁻¹), inorganic salts (sodium acetate (50%, w/w), potassium dihydrogen phosphate (20%, w/w), magnesium sulphate (20%, w/w), and manganese (II) sulphate (10%, w/w mixture) and Tween 80 (ml L⁻¹) were selected as an independent parameter for the RSM. Above mentioned medium components are also present in the MRS broth medium and are thought to be effective in the production of *Lactobacillus fermentum* strain. The value ranges of the independent variables were determined by preliminary experiments. In the study, all experiments were carried out in 3 parallel, and the arithmetic mean of the obtained results was used.

The experimental design was carried out according to Central Composite Design (CCD), which is included in RSM and is widely used in optimization processes, and the number of live cells log₁₀ (cfu/ml) was selected as the response variable. The independent variables selected for the medium composition and examined ranges are given in Table 2.

Table 2. Experimental values and levels of independent variables for CCD

Independent variables	Code	-2.0 (-α)	-1.0 (low)	0.0 (central)	+1.0 (high)	+2.0 (+α)
Glucose (g L ⁻¹)	A	50	75	100	125	150
Yeast extract (g L ⁻¹)	B	15	30	45	60	75
Inorganic salts (g L ⁻¹)	C	5	10	15	20	25
Tween 80 (ml L ⁻¹)	D	10	15	20	25	30

In the full factorial design for CCD, an experimental matrix consisting of 16 factorials, 8 endpoints, and 6 center points were used, and the total of the experiments was equal to 30. The total number of experiments was calculated using the equation given below.

$$\text{Total Number of Experiments} = 2^n + (2)(n) + 6 = 2^4 + (2)(4) + 6 = 30 \quad (1)$$

Here, n represents the number of independent variables.

For the optimization of medium components, the equation of full factorial design given by Eq. (2) was used (Liu et al., 2020);

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum_{i=1}^n \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=2}^n \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

Where Y; the number of viable cells (log₁₀ (cfu ml⁻¹)), β₀; a constant coefficient, X_i and X_j are independent variables that affect the response, β_i; linear effect, β_{ii}; second degree effect, β_{ij}; binary interaction between independent variables. Analysis of variance (ANOVA) and three-dimensional surface graphs for CCD were obtained using Design Expert 10.0 (Stat-Ease) software.

3. Results and Discussion

One of the most important parameters affecting the production of primary and secondary metabolites produced by microorganisms is the medium composition. Among the medium components, the carbon source accounts for approximately 60-80% of the medium cost (Rehm et al., 1987). The maximum availability of valuable metabolites obtained as a result of microbial activities is closely related to the carbon/nitrogen (C/N) ratio in the growth medium where the production takes place (Farezvidal et al., 1992). In previous studies conducted it is stated that microbial cells and metabolite

production will reach maximum values when the C/N ratio is selected as optimum (Ülger, 1997). In addition, with the thought that inorganic salts and Tween 80 would positively affect the microbial cell formation, experiments were carried out within the framework of the experimental plan given in Table 3. Cultivation was carried out using the medium compositions in Table 3, and at the end of the 18th hour, the samples taken from the Erlenmeyer flasks were diluted as required and inoculated in petri dishes containing MRS broth solid medium with agar. After the petri dishes were incubated for 24 hours in an incubator at 37 °C, the colonies formed (Figure 1) were counted, and the results were multiplied by the dilution factor, and thus the number of viable cells formed under each experiment was determined. Actual numbers of living cells obtained in the experiment and the living cell numbers estimated by the model are given in Table 3 as cfu/ml on a log₁₀ basis.

Table 3. Observed and predicted responses for CCD in experimental design matrix prepared with real and coded values of independent model parameters

	Experiment No	(A) Glucose g L ⁻¹	(B) Yeast extract g L ⁻¹	(C) Inorganic salts g L ⁻¹	(D) Tween 80 ml L ⁻¹	Observed log ₁₀ (cfu ml ⁻¹)	Predicted log ₁₀ (cfu ml ⁻¹)				
Factorial design points, 2 ⁿ	1	75	-1	30	-1	15	-1	10.544	10.460		
	2	125	+1	30	-1	15	-1	10.380	10.360		
	3	75	-1	60	+1	10	-1	15	-1	10.114	10.120
	4	125	+1	60	+1	10	-1	15	-1	9.954	9.950
	5	75	-1	30	-1	20	+1	15	-1	10.505	10.470
	6	125	+1	30	-1	20	+1	15	-1	10.342	10.300
	7	75	-1	60	+1	20	+1	15	-1	10.431	10.420
	8	125	+1	60	+1	20	+1	15	-1	10.255	10.180
	9	75	-1	30	-1	10	-1	25	+1	10.462	10.470
	10	125	+1	30	-1	10	-1	25	+1	10.230	10.250
	11	75	-1	60	+1	10	-1	25	+1	10.176	10.220
	12	125	+1	60	+1	10	-1	25	+1	9.954	9.930
	13	75	-1	30	-1	20	+1	25	+1	10.000	10.000
	14	125	+1	30	-1	20	+1	25	+1	9.778	9.710
	15	75	-1	60	+1	20	+1	25	+1	10.079	10.040
	16	125	+1	60	+1	20	+1	25	+1	9.602	9.680
End points r, 2n	17	50	-2	45	0	15	0	20	0	9.954	9.980
	18	150	+2	45	0	15	0	20	0	9.477	9.520
	19	100	0	15	-2	15	0	20	0	10.279	10.360
	20	100	0	75	+2	15	0	20	0	10.000	9.980
	21	100	0	45	0	5	-2	20	0	10.462	10.460
	22	100	0	45	0	25	+2	20	0	10.146	10.210
	23	100	0	45	0	15	0	10	-2	10.532	10.630
	24	100	0	45	0	15	0	30	+2	10.176	10.140
Central point	25	100	0	45	0	15	0	20	0	10.690	10.640
	26	100	0	45	0	15	0	20	0	10.568	10.640
	27	100	0	45	0	15	0	20	0	10.699	10.640
	28	100	0	45	0	15	0	20	0	10.556	10.640
	29	100	0	45	0	15	0	20	0	10.672	10.640
	30	100	0	45	0	15	0	20	0	10.663	10.640

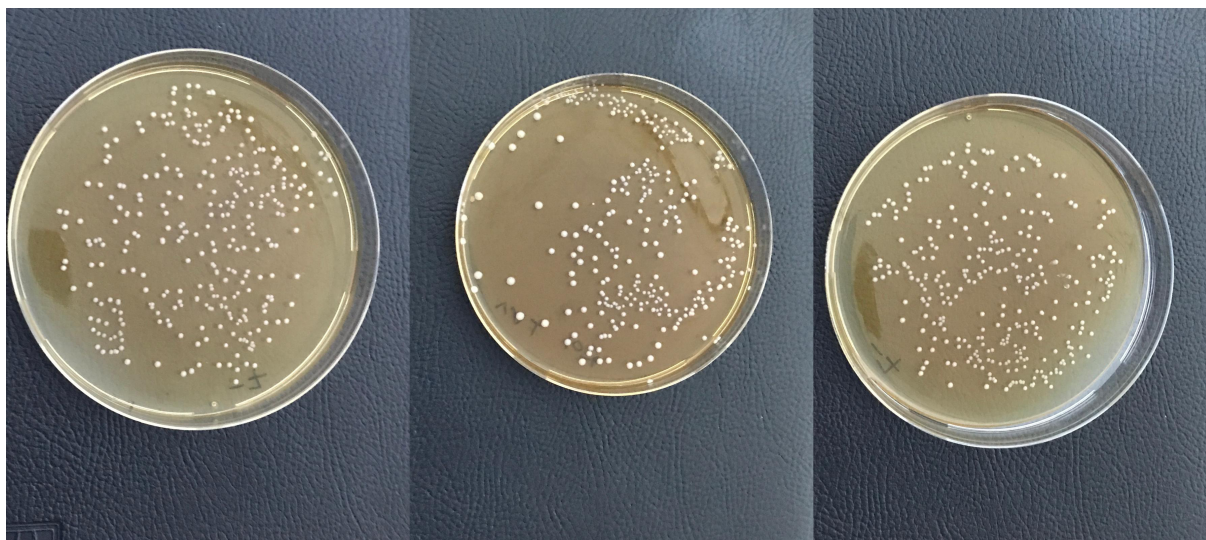


Figure 1. *Lactobacillus fermentum* colonies formed in petri dishes after 10^9 dilution at the end of the 24th hour.

In order to understand which model (linear, 2FI, quadratic, and cubic) better fit the experimental data, Design Expert 10 software was used in the analysis of statistical results, and the findings are given in Table 4. By looking at both the program and statistical coefficients, it was observed that the experimental data fit the quadratic model equation better.

Table 4. Statistical results of suggested models after ANOVA analysis

Source	Sequential p-value	Lack of fit p-value	Adjusted R ²	Predicted R ²	Result
Linear	0.0373	0.0010	0.2168	0.0937	
2FI	0.6969	0.0007	0.1429	0.0985	
<u>Quadratic</u>	<u>< 0.0001</u>	<u>0.3679</u>	<u>0.9516</u>	<u>0.8840</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	0.5134	0.2298	0.9513	0.2373	

As a result of the ANOVA, the quadratic model *Probe* > F value was found to be significant with <0.0001 at a 95% confidence level. It has been determined that the model terms A, B, C, D, BC, CD, A2, B2, C2, D2 where the *probe*>F value is less than 0.05 are effective medium composition parameters in the production of *Lactobacillus fermentum* strain. *Probe*>F value is used to control the effect of coefficients on the result of each component. By using these coefficients, the interaction between independent variables can be determined. *Probe*> F values of linear, quadratic, and interaction terms and other statistical results are presented in Table 5.

The model equation proposed as a result of ANOVA analysis for the production of *Lactobacillus fermentum* strain is given in Equation 3 and Equation 4 in terms of actual and coded values, respectively.

Model equation for the actual values;

$$\begin{aligned}
 Y \left(\log^{10} \left(\frac{cfu}{ml} \right) \right) &= 10.64 - 0.12(\text{Glucose}) - 0.093(\text{Yeast extract}) \\
 &- 0.061(\text{inorganic salts}) - 0.12(\text{tween 80}) \\
 &- 0.016(\text{glucose})(\text{yeast extract}) - 0.016(\text{glucose})(\text{inorganic salts}) \\
 &- 0.031(\text{glucose})(\text{tween 80}) + 0.073(\text{yeast extract})(\text{inorganic salts}) \\
 &+ 0.022(\text{yeast extract})(\text{tween 80}) - 0.12(\text{inorganic salts})(\text{tween 80}) \\
 &- 0.22 * (\text{glucose})^2 - 0.12(\text{yeast extract})^2 - 0.076(\text{inorganic salts})^2 \\
 &- 0.064(\text{tween 80})^2
 \end{aligned} \tag{3}$$

Model equation for the coded values;

$$\begin{aligned}
 Y \left(\log_{10} \left(\frac{cfu}{ml} \right) \right) &= 4.325 + 0.0757 (A) + 0.0246 (B) + 0.1443 (C) + 0.1604 (D) - 4.24E \\
 &- 5(AB) - 1.30E - 4(AC) - 2.45E - 4(AD) + 9.67E - 4(BC) + 2.98E \\
 &- 4(BD) - 4.76E - 3(CD) - 3.58E - 4(A^2) - 5.23E - 4(B^2) - 3.06E \\
 &- 3(C^2) - 2.56E - 3(D^2)
 \end{aligned} \tag{4}$$

Table 5. ANOVA results of regression coefficients in RSM

Source	Sum of squares	DF	Mean square	F-value	P-value
Model	2.940	14	0.210	41.73	< 0.0001
A-Glucose	0.320	1	0.320	63.51	< 0.0001
B-Yeast extract	0.210	1	0.210	41.32	< 0.0001
C-inorganic salts	0.088	1	0.088	17.52	0.0008
D-Tween 80	0.360	1	0.360	72.30	< 0.0001
AB	4.044E-3	1	4.044E-3	0.800	0.3841
AC	4.239E-3	1	4.239E-3	0.840	0.3732
AD	0.015	1	0.015	2.990	0.1045
BC	0.084	1	0.084	16.74	0.0010
BD	7.993E-3	1	7.993E-3	1.590	0.2268
CD	0.230	1	0.230	45.10	< 0.0001
A ²	1.370	1	1.370	272.4	< 0.0001
B ²	0.380	1	0.380	75.42	< 0.0001
C ²	0.160	1	0.160	31.82	< 0.0001
D ²	0.110	1	0.110	22.34	0.0003
Residual	0.075	15	5.032E-3	-	-
Lack of fit	0.056	10	5.578E-3	1.420	0.3679
Pure error	0.020	5	3.939E-3		
Core total	3.020	29			
Mean	10.26				
R ²	0.975				
R ² _{Adj}	0.952				
R ² _{Pre}	0.884				
Std. Dev.	0.071				
C.V. %	0.690				
PRESS	0.350				
Adequate precision	22.43				

The compatibility of the model with experimental data is evaluated based on the value of the multiple correlation coefficient, R^2 (Yang et al., 2020). R^2 shows that suggested linear models can define the changes in the response variable as high as 97.5% and only 2.5% of the total variation cannot be explained by the model. Similarly, the realistically corrected R^2_{Adj} term value was determined as 95.2% (Table 5).

High R^2 and R^2_{Adj} values are an indicator of a close interaction between the experimental results and the values obtained from the model (Wu and Ahn, 2018). From the high R^2 and R^2_{Adj} values obtained in the study, it is possible to say that experimental and predicted values are very close to each other, indicating the success of the established model. The adequate precision value was found to be 22.43. This value shows the signal to noise ratio, and this value is expected to be above 4 (Venkateswarulu et al., 2017). Lack of Fit value (0.3679) was found to be insignificant for the model. The low CV (CV = 0.690%) value clearly demonstrates that the deviations between experimental and predicted values are low, and there is a high degree of precision in the experiments performed, and also the model is reproducible (Long et al., 2018). All descriptive statistical data obtained show that the models proposed in this study are significant.

Studentized residues and a normal % probability plot are given in Figure 2.a. Studentized residues measure the number of standard deviations that distinguish actual and estimated values. The normal % probability checks whether the residues are in a normal distribution. The straight line between these two variables shown in Figure 2.a determines whether a response transformation is required (Mona et al., 2011). Experimentally obtained \log_{10} (cfu ml⁻¹) values and estimated \log_{10} (cfu ml⁻¹) values are given in Figure 2.b. As it can be understood from Figure 2.b, it is clearly seen that the estimated \log_{10} (cfu ml⁻¹) values suggested by the created model and the experimentally obtained \log_{10} (cfu ml⁻¹) values conform and can be defined by the model.

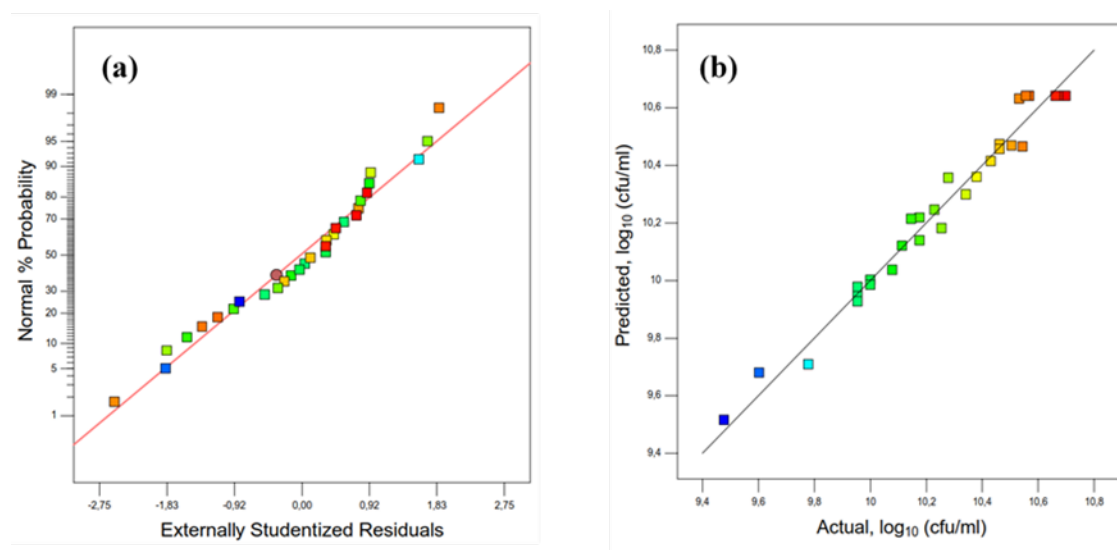


Figure 2. (a) Studentized residues and a normal % probability plot, (b) Experimentally obtained \log_{10} (cfu/ml) values and estimated \log_{10} (cfu ml⁻¹) values plot.

Four independent parameters, namely, glucose concentration (g L⁻¹), yeast extract concentration (g L⁻¹), inorganic salts, and Tween 80 (ml L⁻¹), appear to significantly affected the production of the *Lactobacillus fermentum* strain. It is extremely important to determine the interaction of components with each other while modeling studies when parameters are affected by each other. RSM can reveal these interactions between parameters with the help of stratified graphics and 3D graphics. The 3D response surface graphics obtained as a result of the study are given in Figure 3.

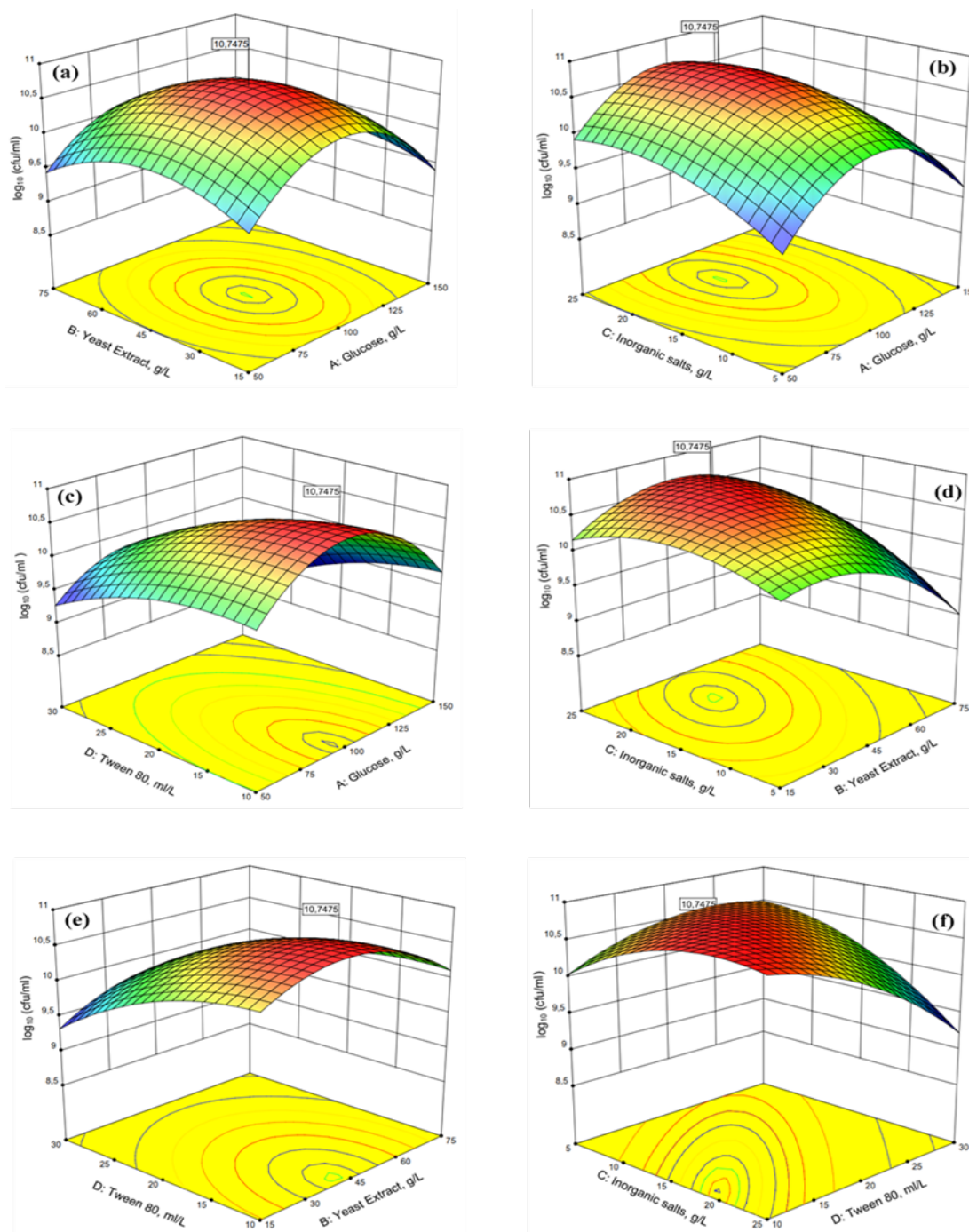


Figure 3. 3D response surface graphics obtained for production of *Lactobacillus fermentum* strain depending on medium composition, **(a)** Glucose and Yeast extract, **(b)** Glucose and inorganic salts, **(c)** Glucose and Tween 80, **(d)** Yeast extract and inorganic salts, **(e)** Yeast extract and Tween 80, **(f)** inorganic salts and Tween 80.

As can be seen from Figures 3.a, 3.b, 3.c, 3.d and 3.e, the production level of *Lactobacillus fermentum* strain decreases in media with low and high concentrations of glucose and low and high yeast extract concentrations. In other current studies, this observation has been expressed as a decrease in microbial activity due to the repression effect of some carbon sources at high concentrations in the growth medium (Yun and Ryu, 2001; Myers and Montgomery, 2002; Geckil et al., 2004). It is reported that microbial activity will be negatively affected due to the absence of a sufficient concentration of nitrogen source in the growth medium. However, it is stated that if the nitrogen source at high concentrations is in the growth medium, the microbial product production efficiency will be inhibited

(Avonts et al., 2004). In this context, a similar decrease was observed in low and high yeast extract concentrations. In Figure 3.b, 3.d, and 3.f it is seen that the production decreases in the medium where inorganic salts at higher and lower concentrations are present. This can be interpreted as a requirement for ensuring the stability of enzymes that catalyze the reactions necessary for microbial cell formation (Djekrif-Dakhmouche et al., 2006). The same is also valid for Tween 80 containing growth medium (Figures 3.c, 3.e and 3.f).

4. Conclusion

As a result, optimization of the media components for the production of *Lactobacillus fermentum* strain by using Design Expert 10 software has revealed the conditions by which the maximum production of *L. fermentum* NBC-08 strain biomass is possible. Confirmation experiments were carried out under these conditions, and the production levels of *L. fermentum* strain in the medium composition suggested by the model were examined. The optimum medium composition suggested by the model is 96.06 g L⁻¹ glucose, 40.76 g L⁻¹ yeast extract, 19.43 g L⁻¹ inorganic salts, and 11.01 ml L⁻¹ Tween 80. This medium composition created as a result of this study was coined as NBC media. The production of the maximum *L. fermentum* strain is 10.75 log₁₀ (cfu ml⁻¹). By using the medium composition suggested by model 3 parallel validation experiments were performed, and the production of *L. fermentum* strain as the result of these experiments was 10.79 log₁₀ (cfu ml⁻¹). These values, which are quite close, indicate that the optimization work is successful and reliable. As a controlled study, the *L. fermentum* NBC-08 strain was grown in MRS Broth medium. As a result of this study, cell viable count in MRS Broth was reached 9.43 log₁₀ (cfu ml⁻¹). A significant difference was found when comparing viable cell counts between MRS broth and the medium suggested by the model. In this case, it can be achieved a more viable cell count by using less medium composition.

It is concluded that this study will make important contributions to the literature and industry for optimizing nutrient composition media for producing maximum lactic acid bacteria.

Acknowledgments

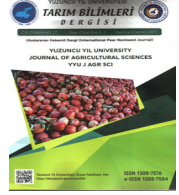
This study; it has been prepared by making use of a part of the public project numbered TAGEM-18/ARGE/24 supported by TAGEM.

References

- Anvari, M., Khayati, G., & Rostami, S. (2014). Optimisation of medium composition for probiotic biomass production using response surface methodology. *J Dairy Res.*, 81, 59-64.
- Avonts, L., Van Uytven, E., & De Vuyst, L. (2004). Cell growth and bacteriocin production of probiotic *Lactobacillus* strains in different media. *International Dairy Journal*, 14, 947-955.
- Asan-Ozusaglam, M., & Gunyakti, A. (2019). *Lactobacillus fermentum* strains from human breast milk with probiotic properties and cholesterol-lowering effects. *Food Sci. Biotechnol.*, 28, 501-509.
- Belova, I. V., Tochilina, A. G., Solovyeva, I. V., Efimov, E. I., Gorlova, I. S., Ivanova, T. P., & Zhirnov, V. A. (2016). *Lactobacillus fermentum* 90 TC-4 taxonomic status confirmation using whole genome sequencing and MALDI TOF mass spectrum. *Russ J Genetics.*, 52, 907-913.
- Boricha, A. A., Shekh, S. L., Pithva, S. P., Ambalam, P. S., & Vyas, B. R. M. (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* species of food and human origin. *Lwt-Food Sci Technol.*, 106, 201-208.
- Bove, P., Russo, P., Capozzi, V., Gallone, A., Spano, G., & Fiocco, D. (2013). *Lactobacillus plantarum* passage through an oro-gastro-intestinal tract simulator: Carrier matrix effect and transcriptional analysis of genes associated to stress and probiosis. *Microbiol Res.*, 168, 351-359.
- Djekrif-Dakhmouche, S., Gheribi-Aoulmi, Z., Meraihi, Z., & Bennamoun, L. (2006). Application of a statistical design to the optimization of culture medium for α -amylase production by *Aspergillus niger* ATCC 16404 grown on orange waste powder. *Journal of Food Engineering*, 73(2), 190-197.
- Farezvidal, M. E., Fernandezvivas, A., & Arias, J. M. (1992). Production of Alpha-Amylase by *Myxococcus-Coralloides-D*. *Journal of Applied Bacteriology.*, 73, 148-156.

- Gao, X., Qiao, S. Y., & Lu, W. Q. (2009). Determination of an economical medium for growth of *Lactobacillus fermentum* using response surface methodology. *The Society for Applied Microbiology. Letters in Applied Microbiology*, *49*, 556–561.
- Geckil, H., Gencer, S., & Uckun, M. (2004). *Vitreoscilla* hemoglobin expressing *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* respond differently to carbon catabolite and oxygen repression for production of L-asparaginase, an enzyme used in cancer therapy. *Enzyme Microb Tech.*, *35*, 182-189.
- Gil-Campos, M., Lopez, M. A. Rodriguez-Benitez, M. V., Romero, J., Roncero, I., Linares, M. D., Maldonado, J., Lopez-Huertas, E., Berwind, R., Ritzenthaler, K. L., et al. (2012). *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 is safe and well tolerated in infants of 1-6 months of age: A randomized controlled trial. *Pharmacol. Res.*, *65*, 231–238.
- Iranmanesh, M., Hamid, E., & Mojgani, N. (2014). Antibacterial activity and cholesterol assimilation of lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian dairy products. *Lwt-Food Sci Technol.*, *58*, 355-359.
- Kaewnopparat, S., Dangmanee, N., Kaewnopparat, N., Srichana, T., Chulasiri, M., & Settharaksa, S. (2013). In vitro probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* SK5 isolated from vagina of a healthy woman. *Anaerobe*, *22*, 6-13.
- Kanmani, P., Kumar, R. S., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V., & Arul, V. (2012). Application of response surface methodology in the optimisation of a growth medium for enhanced natural preservative bacteriocin production by a probiotic bacterium. *Nat Prod Res.*, *26*, 1539-1543.
- Lee, N. K., Park, Y. L., Choe, G. J., Chang, H. I., & Paik, H. D. (2010). Medium Optimization for the Production of Probiotic *Lactobacillus acidophilus* A12 Using Response Surface Methodology. *Korean J Food Sci An.*, *30*, 359-364.
- Liew, S. L., Ariff, A. B., Raha, A. R., & Ho, Y. W. (2005). Optimization of medium composition for the production of a probiotic microorganism, *Lactobacillus rhamnosus*, using response surface methodology. *Int J Food Microbiol.*, *102*, 137-142.
- Liu, H. R., Zhang, D., Zhang, X., Zhou, C. Z., Zhou, P., & Zhi, Y. E. (2020). Medium Optimization for Spore Production of a Straw-Cellulose Degrading *Actinomyces* Strain under Solid-State Fermentation Using Response Surface Method. *Sustainability-Basel*. *12*.
- Long, J., Zhao, X., Liang, F., Liu, N., Sun, Y. Y., & Xi, Y. Z. (2018). Optimization of fermentation conditions for an *Escherichia coli* strain engineered using the response surface method to produce a novel therapeutic DNA vaccine for rheumatoid arthritis. *J Biol Eng.*, *12*.
- López-Huertas, E. (2015). Safety and efficacy of human breast milk *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 (2015). A mini-review of studies with infant formulae. *Benef. Microbes*, *6*, 219–224.
- Maldonado, J., Canabate, F., Sempere, L., Vela, F., Sanchez, A. R., Narbona, E., Lopez-Huertas, E., Geerlings, A., Valero, A. D., Olivares, M., et al. (2012). Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, *54*, 55–61.
- Marco, M.L., Pavan, S., & Kleerebezem, M. (2006) Towards understanding molecular modes of probiotic action. *Curr Opin Biotech.*, *17*, 204-210.
- Mona, S., Kaushik, A., & Kaushik, C. P. (2011). Waste biomass of *Nostoc linckia* as adsorbent of crystal violet dye: Optimization based on statistical model. *Int Biodeter Biodegr.*, *65*, 513-521.
- Myers, R. H., & Montgomery, D. C. (2002). *Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. Second Edition.
- Ozkan, E. R., Demirci, T., Ozturk, H. I., & Akin, N. (2020). Screening *Lactobacillus* strains from artisanal Turkish goatskin casing Tulum cheeses produced by nomads via molecular and in vitro probiotic characteristics. *J Sci Food Agr.*, *101*(7), 2799-2808.
- Pithva, S., Shekh, S., Dave, J., & Vyas, B. R. M. (2014). Probiotic Attributes of Autochthonous *Lactobacillus rhamnosus* Strains of Human Origin. *Appl Biochem Biotech.*, *173*, 259-277.
- Ramos, C. L., Thorsen, L., Schwan, R. F., & Jespersen, L. (2013). Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products. *Food Microbiol.*, *36*, 22-29.
- Rehm, J., Reed, G., & Kennedy, J. F. (1987). *Biotechnology*, Vch. New York, *7a*, 5-100.
- Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies, R., Lindqvist, R., Norrung, B., Robertson, L., Ru, G., Escamez, P. S. F., Sanaa, M., Simmons, M., Skandamis, P., Snary, E., Speybroeck, N.,

- Ter Kuile, B., Threlfall, J., Wahlstrom, H., Cocconcelli, P. S., Peixe, L., Maradona, A., Suarez, I., Vlak, J., Barizzone, F., Correia, S., & Herman, L., (2018). Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 7: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September. *Efsa J.*, 16.
- Rodrigues, L., Teixeira, J., Oliveira, R., & Van Der Mei, H. C. (2006). Response surface optimization of the medium components for the production of biosurfactants by probiotic bacteria. *Process Biochem.*, 41, 1-10.
- Shamekhi, F., Shuhaimi, M., Ariff, A. B., & Yazid, A. M. (2012). Optimization of a cryoprotective medium for infant formula probiotic applications using response surface methodology. *Ann Microbiol.*, 62, 911-921.
- Shang, Z. F., Fan, D. D., Deng, J. J., Ma, P., Ma, X. X., & Mi, Y. (2013). Optimization of Fermentation Medium for Cell Yield of Recombinant *Pichia pastoris* during Growth Stage using Response Surface Methodology. *J Pure Appl Microbio.*, 7, 1207-1212.
- Stephenie, W., Kabeir, B.M., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., & Yazid, A.M. (2007). Growth optimization of a probiotic candidate, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4, in milk medium using response surface methodology. *Biotechnol Bioproc E.* 12, 106-113.
- Teame, T., Wang, A. R., Xie, M. X., Zhang, Z., Yang, Y. L., Ding, Q. W., Gao, C. C., Olsen, R. E., Ran, C., & Zhou, Z. G. (2020). Paraprobiotics and Postbiotics of Probiotic Lactobacilli, Their Positive Effects on the Host and Action Mechanisms. A Review. *Front Nutr.*, 7.
- Thite, V. S., Nerurkar, A. S., & Baxi, N. N. (2020). Optimization of concurrent production of xylanolytic and pectinolytic enzymes by *Bacillus safensis* M35 and *Bacillus altitudinis* J208 using agro-industrial biomass through Response Surface Methodology. *Sci Rep-Uk.*, 10.
- Ülger, C. (1997) *Production of Bacillus subtilis and Bacillus amyloliquefaciens alpha-amylase in aqueous two phase systems*. Hacettepe Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, Ankara.
- Venkateswarulu, T. C., Prabhakar, K. V., & Kumar, R. B. (2017). Optimization of nutritional components of medium by response surface methodology for enhanced production of lactase. *3 Biotech.*, 7.
- Wu, W. J., & Ahn, B. Y. (2018). Statistical Optimization of Medium Components by Response Surface Methodology to Enhance Menaquinone-7 (Vitamin K-2) Production by *Bacillus subtilis*. *J Microbiol Biotechn.*, 28, 902-908.
- Yang, F. F., Long, C., Wei, Z. L., & Long, L. J. (2020). Optimization of medium using response surface methodology to enhance the growth of *Effrenium voratum* (Symbiodiniaceae, Dinophyceae). *J Phycol.*, 56, 1208-1215.
- Yun, J. S., & Ryu, H. W. (2001). Lactic acid production and carbon catabolite repression from single and mixed sugars using *Enterococcus faecalis* RKY1. *Process Biochem.*, 37, 235-240.



Phycocerythrin Accumulation of *Porphyridium cruentum* Culture at Indoor Tubular Photobioreactor

Gökhun Çağatay ERBİL¹, Mahmut ELP^{*2}, Yaşar DURMAZ³

^{1,2}Kastamonu University, Faculty of Fisheries, Aquaculture Department, Kastamonu, Turkey

³Ege University, Faculty of Fisheries, Aquaculture Department, İzmir, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-6704-5073>, ²<https://orcid.org/0000-0001-6811-5048>, ³<https://orcid.org/0000-0002-1858-5882>

*Corresponding author e-mail: mahmutelp@kastamonu.edu.tr

Article Info

Received: 29.08.2021

Accepted: 21.12.2021

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.986286

Keywords

Phycocerythrin,
Pigment,
Porphyridium cruentum,
Tubular photobioreactor

Abstract: Microalgae are used in aquaculture and various industrial fields such as pharmaceuticals, feed, food, agriculture, and energy. Microalgae is a potential natural food coloring agent as pigments and contain bioactive components such as polyunsaturated fatty acids (PUFA) in their composition. *Porphyridium cruentum* is a red alga with the ability to accumulate valuable pigments biomolecules such as phycocerythrin (PE), chlorophyll, and other carotenoids. In this study, *P. cruentum* was cultured for 51 days at the indoor pilot scale tubular photobioreactor (PBR). The highest cell number was 31.84×10^6 cells mL⁻¹ and the highest specific growth rate was determined as 0.80. Total phycobiliprotein and phycocerythrin amounts were reached 0.252 ± 0.009 mg mL⁻¹ and 0.224 ± 0.007 mg mL⁻¹ at the early exponential phase, respectively.

To Cite: Erbil, G Ç, Elp, M, Durmaz, Y, 2022. Phycocerythrin Accumulation of *Porphyridium cruentum* Culture at Indoor Tubular Photobioreactor. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 81-88. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.986286>

Porphyridium cruentum'ün Kapalı Alan Tübüler Fotobiyoreaktör Kültüründe Fikoeritrin Birikimi

Makale Bilgileri

Geliş: 29.08.2021

Kabul: 21.12.2021

Online Yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.986286

Anahtar Kelimeler

Fikoeritrin,
Pigment,
Porphyridium cruentum,
Tübüler fotobiyoreaktör.

Öz: Mikroalgler, akuakültür ile birlikte farmasötik, yem, gıda, tarım ve enerji gibi endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. Mikroalg pigmentleri potansiyel gıda renklendirme ajanı olmakla birlikte, yapılarında çoklu doymamış yağ asitleri gibi biyoaktif bileşenler içermektedir. *Porphyridium cruentum* fikoeritrin, klorofil ve karotenoidler gibi değerli pigmentleri biriktirebilme yeteneğine sahip kırmızı bir alg olarak bilinmektedir. Bu çalışmada, *P. cruentum*'ün 51 gün boyunca kapalı alanda pilot ölçekli tübüler fotobiyoreaktörde kültürü yapılmıştır. En yüksek hücre sayısı 31.84×10^6 hücre mL⁻¹ olarak belirlenmiş olup, en yüksek spesifik büyüme oranı 0.80 olarak belirlenmiştir. Toplam fikoeritrin miktarları erken üssel fazda sırasıyla 0.252 ± 0.009 mg mL⁻¹ ve 0.224 ± 0.007 mg mL⁻¹'ye ulaşmıştır.

1. Introduction

Microalgae are well-studied microorganisms and have been used for feeding zooplankton, molluscs, and lastly, for human consumption (Kent et al., 2015). In years, the use of these organisms went beyond the previous purposes and started to see as a resource in many different fields such as

bioenergy, bioplastic, pharmaceuticals, drugs, and biofertilizers (Spolaore et al., 2006). As a result, different production systems such as photobioreactors (PBR) and fermenters have been started to be used commonly in recent years (Enzmann et al., 2019). The major role of PBRs on microalgae production has already been explained (Acién et al., 2017). PBRs could be designed in many shapes, such as tubular, flat plates, and columns. Every design may have specific advantages and disadvantages. Also, target species could help to choose the design of PBRs. For instance, it was stated that tubular PBR is more efficient than flat plate PBR for *Nannochloropsis oculata* cultivation (Durmaz and Erbil, 2020). Many methods have also been developed to isolate valuable metabolites from these algae. Recently, research and development on the efficiency of culture systems and methods have become the main objective in microalgae production.

Porphyridium cruentum is a red alga that belongs to the Rhodophyta. The microalga has a rounded shape with a lack of cell walls. Its unique red color comes from phycobiliprotein substances. Dominant accessory pigment phycoerythrin is the most valuable biomolecule of *P. cruentum* and can be reached to 82% of the total phycobiliprotein amount (Fuentes et al., 2000). The phycobiliproteins include R-phycoerythrin, allophycoerythrin, and three forms of phycoerythrin. Phycoerythrins, present in the greatest amount, are giving to *Porphyridium* its bloody red color. B-phycoerythrin is present in the more primitive red algae and is found in *Porphyridium*. Phycoerythrin has used for food varied applications such as food colorization, pharmaceuticals, and immunology (Toker, 2019).

P. cruentum can naturally accumulate high amounts of pigments, fatty acids, proteins, vitamins, hydrocarbons, polysaccharides, and many other metabolites. However, the biochemical composition of microalgae biomass depends on growth conditions such as PBRs, nutrient environment, temperature, salinity, pH, light. Therefore, it is important to optimize cultural conditions. The aim of this study is to investigate of effects of indoor pilot scale tubular PBR and culture growth phases on the phycobiliprotein accumulation of *P. cruentum*.

2. Materials and Methods

Inoculation culture of *Porphyridium cruentum* (UTEX 161) was grown at flasks under constant illumination (Philips Master TLD Super 80 830 & 840 36w) for three weeks. F/2 growth medium (Guillard, 1975) was used in both inoculation cultures and in the pilot scale tubular PBR system.

2.1. Photobioreactor

The tubular PBR system can be separated into two parts as the solar receiver (tubular area) and the reservoir tank (Figure 1). The working volume of the system is 140 L and the solar receiver constitutes 107 L of it. Four fluorescent lights (2 x Philips Master TLD Super 80 830 36w & 2 x Philips Master TLD Super 80 840 36w) were placed between the tubes, and four low CRI cool white led lights (100 w) were placed against the system for supporting the illumination. Solar irradiance on the reactor surface was measured as $250 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ on-line using a quantum scalar irradiance meter (LI-190 SA, Licor Instruments, Lincoln, NE, USA). System circulation was provided by a submersible water pump placed in the reservoir tank.

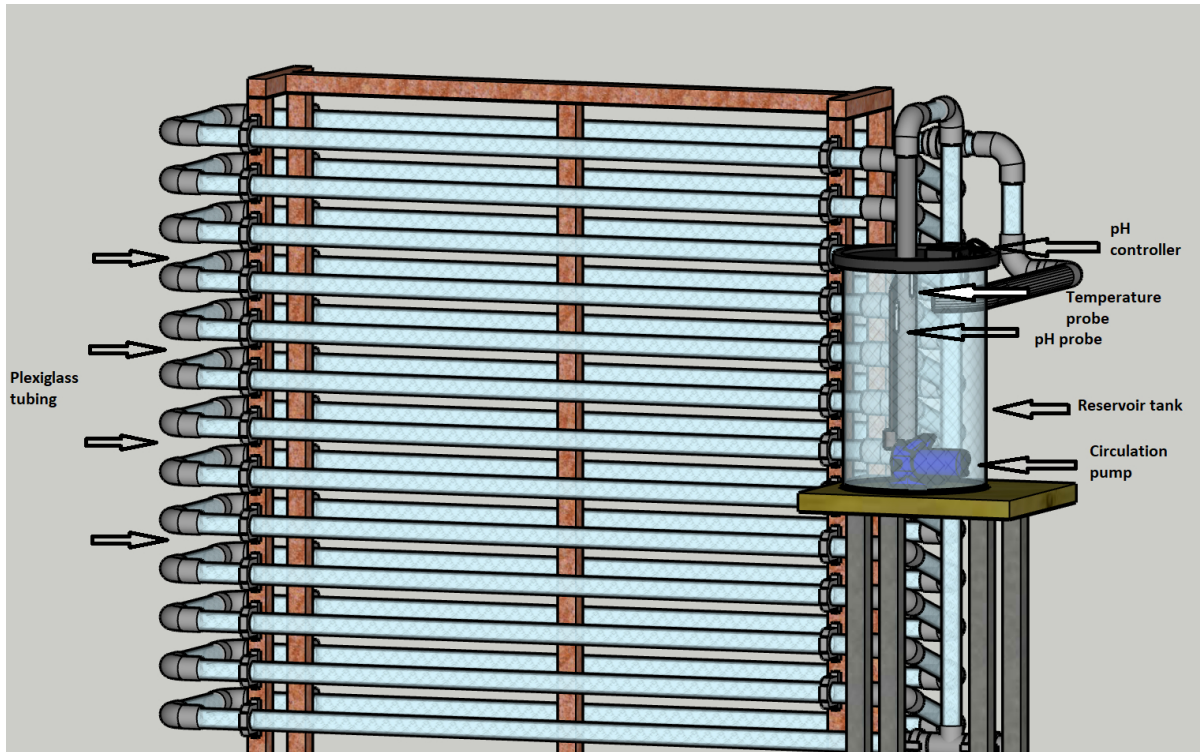


Figure 1. Illustration of the tubular PBR.

Before the inoculation, the tubular PBR was disinfected with sodium hypochlorite and neutralized with sodium thiosulfate. The temperature was arranged with air condition in the room as 20.5-22.5 °C. System pH was controlled with automatically CO₂ injection (JBL CO₂/pH control 12V) and varied between 7.1-7.8. PBR system was operated semi-continuously.

2.2. Analytical Methods

All measurements were performed in triplicate during the study. Samples were taken daily for cell count at Neubauer haemocytometer and for optical density measurement at Hach DR 6000 spectrophotometer. Specific growth rates were calculated by using the equation given below:

$$\mu = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t - t_0}$$

Where N_t is cell number at time (t) and N₀ is the beginning cell number at time t₀.

Total phycobiliprotein (PB), phycoerythrin (PE), R-phycoerythrin (R-PC), and Allo-phycoerythrin (A-PC) amounts were determined 4 times during the culture period on the day of 14, 24, 34, and 44. Phycobiliprotein amounts were determined spectrophotometrically. Fresh cells were harvested, and phycobiliproteins were extracted with distilled water by sonication. Absorbance values of the samples were read in Hach DR 6000 spectrophotometer at 545 nm, 620 nm, and 650 nm.

Calculations were done according to the formulas 1-4 were given by Gantt & Lipschultz (1974).

$$\text{Phycoerythrin (PE)} = (A_{545\text{nm}} - 0.572(A_{620\text{nm}}) + 0.246(A_{650\text{nm}})) / 5.26 \quad (1)$$

$$\text{R-phycoerythrin (R-PC)} = (A_{620\text{nm}} - 0.666(A_{650\text{nm}})) / 3.86 \quad (2)$$

$$\text{Allo-phycoerythrin (A-PC)} = (A_{650\text{nm}} - 0.105(A_{620\text{nm}})) / 4.65 \quad (3)$$

$$\text{Total phycobiliprotein (Total PBP)} = (\text{PE}) + (\text{R-PC}) + (\text{A-PC}) \quad (4)$$

2.3. Statistical Analysis

Results were analysed by one-way ANOVA with significance at $P \leq 0.05$, and Tukey's multiple comparison test was used for the determination of significant differences among means. Statistical procedures were carried out by using IBM SPSS Statistics 23 software.

3. Results

3.1. Culture Density

The experiment was started with 0.145×10^6 cells mL^{-1} density and was continued for 51 days (Figure 2). The First five days were recorded as the lag phase. The specific growth rate at the early exponential phase was 0.33 division days⁻¹ for the first week and the culture cell number was reached 1.68×10^6 cells mL^{-1} on the 7th day. In the early exponential phase of the culture, the specific growth rate was 0.32 division days⁻¹ and cell numbers were 9.28×10^6 cells mL^{-1} on the 14th day.



Figure 2. *Porphyridium cruentum* culture at tubular PBR (left to right: 1st day, 7th day, 14th day, 24th day, 34th day, 44th day).

However, the specific growth rate was started to decrease at the third week and calculated as an average of 0.15 division days⁻¹. After three weeks, the cell density of *P. cruentum* at tubular PBR was reached 19.88×10^6 cells mL^{-1} , and the average specific growth rate was 0.26 division days⁻¹. The highest cell number was determined as 31.84×10^6 cells mL^{-1} on the day of 28. Both cell count and OD results showed that there were four phases of in culture: 0-5 days was a lag phase, 5-23 days was an exponential phase, 24-34 days were a stationary phase, and 35-51 days were decay phase (Figure 3).

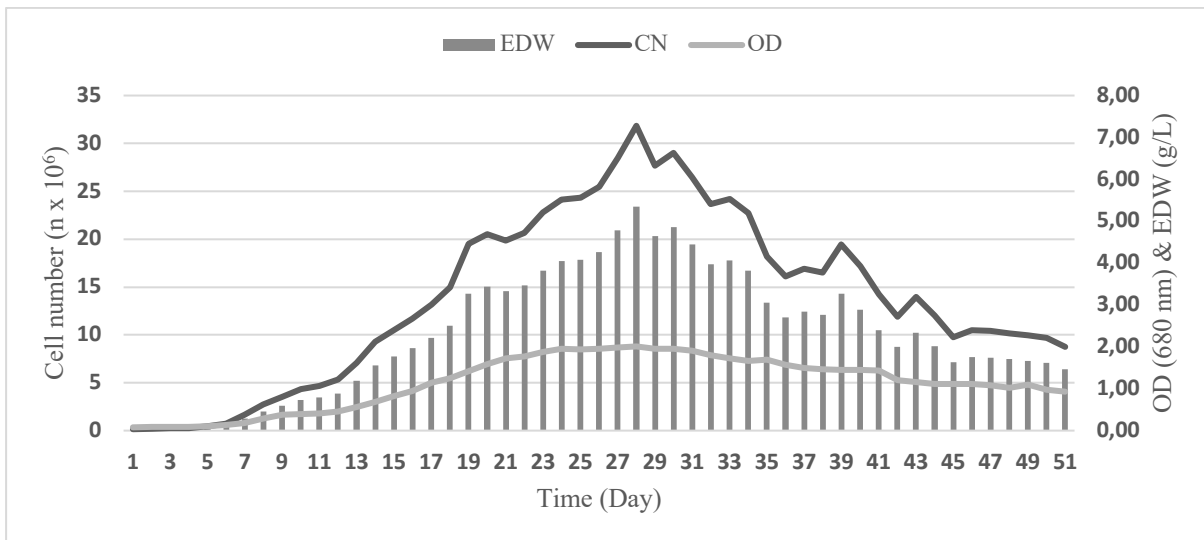


Figure 3. Cell numbers ($n \times 10^6$), optical density (680 nm) and estimated dry weights of the *Porphyridium cruentum* culture in the pilot scale tubular photobioreactor (Estimated dry weights were calculated according to the data given by Razaghi et al., (2014)).

The harvest regime was performed according to the increase in cell number. Forty-six liters of culture was harvested at the exponential phase, and mean cell density was calculated as 9.92×10^6 cells mL^{-1} for this period. Thirty liters of *P. cruentum* were harvested at the stationary phase, and the mean cell density was 27.18×10^6 cells mL^{-1} . Finally, harvested culture amount was 40 liters with 16.95×10^6 cells mL^{-1} mean cell density at the decay phase, and then the whole system was harvested at the end of the culture.

3.2. Phycobiliproteins

Total PB, PE, R-PC, and A-PC amounts were calculated at different culture phases (Table 1). According to the results, the highest amounts of phycobiliproteins were found at the early stationary phase. The maximum PE amount per mL was 0.224 ± 0.007 mg at that culture phase. However, the highest PE/PB ratio was found as 0.92 ± 0.013 at the late stationary phase. Also, at the decay phase decrease in PE and R-PC amounts was found while the A-PC amount was increased.

Table 1. Total PB, PE, R-PC and A-PC amounts of *Porphyridium cruentum* (mg/mL) at different culture phases (Superscript letters show the statistical difference)

Phase	Total PB (mg mL^{-1})	PE (mg mL^{-1})	R-PC (mg mL^{-1})	A-PC (mg mL^{-1})	PE/Total PB
Early Exponential	0.053 ± 0.003^a	0.045 ± 0.002^a	0.004 ± 0.001^a	0.004 ± 0.001^a	0.85 ± 0.030^a
Early Stationary	0.252 ± 0.009^b	0.224 ± 0.007^b	0.014 ± 0.003^b	0.013 ± 0.001^b	0.89 ± 0.006^{ab}
Late Stationary	0.187 ± 0.006^c	0.172 ± 0.006^c	0.009 ± 0.002^{ab}	0.005 ± 0.001^a	0.92 ± 0.013^b
Decay	0.119 ± 0.007^d	0.102 ± 0.004^d	0.008 ± 0.003^{ab}	0.008 ± 0.000^c	0.86 ± 0.018^a

Mean \pm standard deviation. Different superscript uppercase letters show the significant differences in each parameter between culture phases ($P < 0.05$).

A statistically significant difference was detected between Total PB and PE amounts at different culture phases. However, R-PC differed only between early exponential and early stationary phases. Statistical difference in A-PC amounts was found at early stationary and decay phases.

The highest total PB and PE per cell were determined on the day of 24 as 10.42 pg and 9.29 ± 0.28 pg, respectively. However, the highest concentrations of R-PC (0.7 ± 0.09 pg cell^{-1}) and A-PC (0.69 ± 0.02 pg cell^{-1}) were determined on the day of 44 (Figure 4).

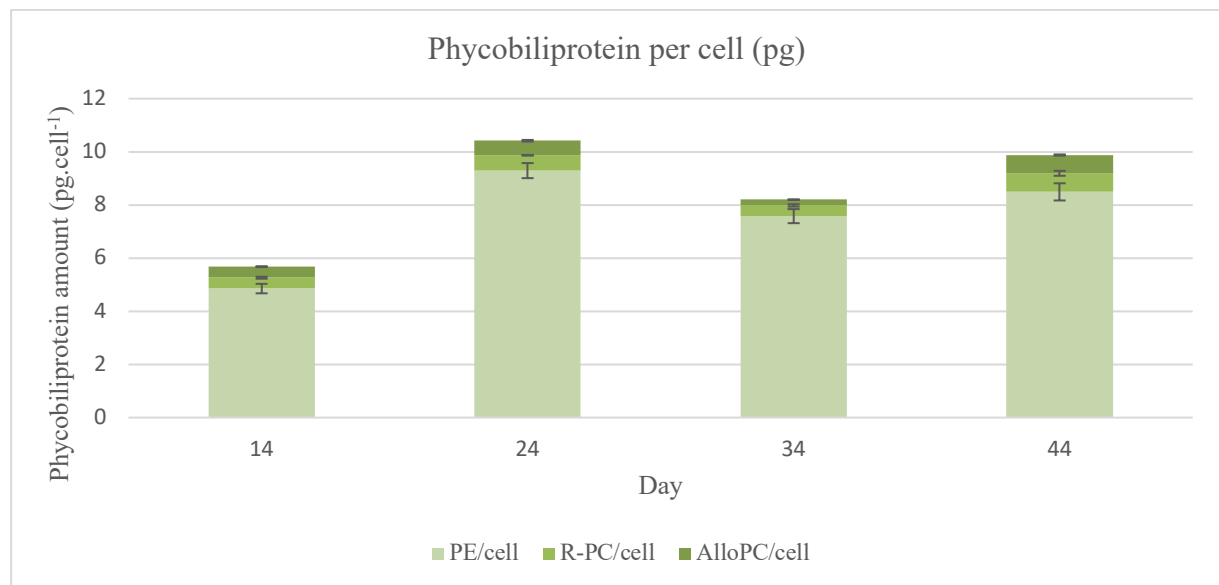


Figure 4. PB (PE+R-PC+A-PC), PE, R-PC, and A-PC amounts per cell of *Porphyridium cruentum* at different culture phases.

According to cellular phycobiliprotein and harvest quantities at culture phases, the highest amount of phycobiliprotein and phycoerythrin were collected as 7.59 g and 6.88 g at the stationary phase, respectively. The total harvested phycobiliprotein amount was calculated as 31.68 g, and phycoerythrin was 27.57 g during the 51 days of the experiment (Table 2).

Table 2. Harvested PB and PE amounts of *P. cruentum*

Harvest Time	PB pg cell ⁻¹	PE pg cell ⁻¹	Harvest Quantity (L)	Mean Cell Number (L)	Total (g)	PB Total (g)	PE
<i>Exponential</i>	5.68	4.85	46	9.92 x 10 ⁹	2.59	2.21	
<i>Stationary</i> (<i>early & late</i>)	9.31	8.44	30	27.18 x 10 ⁹	7.59	6.88	
<i>Decay</i>	9.88	8.49	40	16.95 x 10 ⁹	6.70	5.76	
<i>Final</i>	9.88	8.49	140	10.70 x 10 ⁹	14.8	12.72	
<i>Total</i>					31.68	27.57	

4. Discussion

The pilot scale tubular PBR system had a significant effect on the growth rate in the culture of *P. cruentum*. This microalga can be easily grown and obtain maximum biomass using the pilot scale tubular PBR system indoor and on artificial light illumination. This biomass yield is comparable to typical biomass concentrations achieved in other PBRs. In a study, *P. purpureum* was cultured in a greenhouse at BioFence bioreactor and stated that maximum cell number was reached to 14.3 x 10⁶ cells mL⁻¹ (Fuentes-Grünwald et al., 2015). In a flat plate bioreactor, 13.8 x 10⁶ cells mL⁻¹ was found as the maximum cell number by Liqin et al., (2008). In another study conducted with tubular PBR located in an aquaculture facility, *P. cruentum* was reached to maximum cell density as 26.2 x 10⁶ (Durmaz et al., 2017). In this study, maximum cell density was reached 31.84 x 10⁶ cells mL⁻¹. In comparison with the studies mentioned above, this study was achieved the highest cell density. However, it was started to decrease after reaching the maximum density.

Li et al., (2019) stated that nitrate concentrations might affect the B-phycoerythrin (B-PE) production of *P. purpureum*. According to the study, 17.6 mM concentration of KNO₃ was provided the highest B-PE production as 0.193±0.002 g L⁻¹ (Li et al., 2019). NaNO₃ was used as a nitrate source in this study with the standard F/2 medium concentration (8.82 mM) which was given by Guillard, (1975). On day 24, the B-PE amount was found as 0.224±0.007 g L⁻¹.

Wang et al. (2007) reported that 112 mg l⁻¹ PE was found as the highest amount at 100 mL liquid volume with a 20% inoculation rate, 6.5 pH and below 4500 lux. In this study, pH was controlled with CO₂ injection and was held around 7.5 and light intensity was higher (9000 lux) when the culture was reached its highest PE amount per liter. However, it was reported that amounts of polysaccharides also increase with the light intensity (Wang et al., 2007), which may cause precipitations of polysaccharides with cells in the culture system. As a result, light intensity, pH, inoculation rate and liquid volume factors were found to be effective on PE production of *P. cruentum*.

Xu et al. (2020), described that decreasing temperature and light intensity under high nitrogen conditions results in higher PE content. According to the study, the highest PE content of *P. purpureum* was 229±11 mg L⁻¹ (Xu et al., 2020). A similar result (224±7 mg L⁻¹) was found in our study without any induction. However, it is seen that temperature and light induction might provide higher PE content, especially if the culture induced between harvest intervals.

82% was the highest PE/PBP ratio of a study on *P. cruentum* culture in tubular PBR (Fuentes et al., 2000). In the present study, the maximum ratio was found as 92%. However, PE/PBP ratio was ranged between 80 and 92% at different culture phases. It can be assumed that the stationary phase is the most suitable for phycoerythrin production in considering accumulation per cell and culture density. The differences might be occurred because of variation of the growth medium and the light between phases.

The effects of nitrogen source and irradiance on *P. cruentum* pigment are already been investigated. It is stated that the use of NO₃ as the nitrogen source under 200 μmol photon m⁻² s⁻¹ irradiance was yielded 1 pg cell⁻¹ PE and 2 pg cell⁻¹ total phycobiliprotein content (del Pilar Sánchez-

Saavedra et al., 2018). Li et al. (2020) showed that a low C/N (0.96) ratio was yielded higher PE content per cell, which was reached more than 30 pg cell⁻¹. PE amount of *P. cruentum* per cell was varied between 4.85-9.29 pg and the total phycobiliprotein per cell amount was reached more than 10 pg in this study. The wide difference of the phycoerythrin content per cell between studies might be the result of major variations on culture media, light sources, and culture systems. It is clear that phycoerythrin content per cell is highly variable depending on the culture conditions.

A great deal of work has been devoted to the genus *Porphyridium*, which grows naturally in a diverse spectrum of habitats. They have chlorophyll *a*, but also have large amounts of the pigments phycocyanin and phycoerythrin, which give them their distinctive red, brown, and purple colors. Phycoerythrin, extracted from the microalga *P. cruentum*, is gaining momentum for its application in the food industry as a red pigment (Sudhakar et al., 2015). Phycobiliprotein produced from Rhodophyte *Porphyridium* is commercially available and is widely used as colorants in candy bars, sweets, cold drinks, chewing gums, dairy products, and so on (Spolaore et al., 2006). High prices of phycobiliproteins in the global market make it difficult to use in industrial applications commonly. It is shown that high amounts of phycobiliproteins per cell, also high PE/PB ratio was found in this study. Through this, phycobiliprotein production may spread with further investigations on the optimization of culture. Consequently, it is thought that efforts to increase production efficiency should continue in order to eliminate this obstacle.

References

- Acién, F. G., Molina, E., Reis, A., Torzillo, G., Zittelli, G. C., Sepúlveda, C., & Masojídek, J. (2017). Photobioreactors for the production of microalgae. *Microalgae-based biofuels and bioproducts*, 1-44.
- del Pilar Sánchez-Saavedra, M., Castro-Ochoa, F. Y., Nava-Ruiz, V. M., Ruiz-Güereca, D. A., Villagómez-Aranda, A. L., Siqueiros-Vargas, F., & Molina-Cárdenas, C. A. (2018). Effects of nitrogen source and irradiance on *Porphyridium cruentum*. *J Appl Phycol*, 30(2), 783-792.
- Durmaz, Y., & Erbil, G. Ç. (2020). Comparison of Industrial-scale Tubular Photobioreactor to FRP (Fiberglass reinforced plastic) Panel Photobioreactor on Outdoor Culture of *Nannochloropsis oculata* in the Marine Hatchery. *Su Ürünleri Dergisi*, 37(4), 1-1.
- Durmaz, Y., Tamtürk, F., Konar, N., Toker, Ö. S., & Palabiyik, İ. (2017). Effect of Pigment Composition of *Porphyridium Cruentum* as Continuously Culture Method in Industrial Scale Tubular Photobioreactor. *Int J Life Sci Biotechnol Pharma Res*, 6, 18-21.
- Enzmann, F., Stöckl, M., Zeng, A. P., & Holtmann, D. (2019). Same but different—Scale up and numbering up in electrobiotechnology and photobiotechnology. *Eng Life Sci*, 19(2), 121-132.
- Fuentes, M. R., Fernández, G. A., Pérez, J. S., & Guerrero, J. G. (2000). Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chem*, 70(3), 345-353.
- Fuentes-Grünwald, C., Bayliss, C., Zanain, M., Pooley, C., Scolamacchia, M., & Silkina, A. (2015). Evaluation of batch and semi-continuous culture of *Porphyridium purpureum* in a photobioreactor in high latitudes using Fourier Transform Infrared spectroscopy for monitoring biomass composition and metabolites production. *Bioresour Technol*, 189, 357-363.
- Gantt, E., & Lipschultz, C. A. (1974). Phycobilisomes of *Porphyridium cruentum*. Pigment analysis. *Biochem*, 13(14), 2960-2966.
- Guillard, R. R. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In Culture of marine invertebrate animals* (pp. 29-60). Springer, Boston, MA.
- Kent, M., Welladsen, H. M., Mangott, A., & Li, Y. (2015). Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. *PloS one*, 10(2), e0118985.
- Li, S., Ji, L., Chen, C., Zhao, S., Sun, M., Gao, Z., & Fan, J. (2020). Efficient accumulation of high-value bioactive substances by carbon to nitrogen ratio regulation in marine microalgae *Porphyridium purpureum*. *Bioresour Technol*, 123362.
- Li, T., Xu, J., Wu, H., Jiang, P., Chen, Z., & Xiang, W. (2019). Growth and biochemical composition of *Porphyridium purpureum* SCS-02 under different nitrogen concentrations. *Marine drugs*, 17(2), 124.

- Liqin, S., Wang, C., & Lei, S. (2008). *Effects of light regime on extracellular polysaccharide production by Porphyridium cruentum cultured in flat plate photobioreactors*. In 2008 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (pp. 1488-1491). IEEE.
- Razaghi, A., Godhe, A., & Albers, E. (2014). Effects of nitrogen on growth and carbohydrate formation in *Porphyridium cruentum*. *Open Life Sciences*, 9(2), 156-162.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *J biosci bioeng*, 101(2), 87-96.
- Sudhakar, M. P., Jagatheesan, A., Perumal, K., & Arunkumar, K. (2015). Methods of phycobiliprotein extraction from *Gracilaria crassa* and its applications in food colourants. *Algal Research*, 12, 115–120.
- Toker, O. S. (2019). *Porphyridium cruentum* as a natural colorant in chewing gum. *Food Sci Technol*, 39, 195-201.
- Wang, J., Chen, B., Rao, X., Huang, J., & Li, M. (2007). Optimization of culturing conditions of *Porphyridium cruentum* using uniform design. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(10), 1345-1350.
- Xu, Y., Jiao, K., Zhong, H., Wu, S., Ho, S. H., Zeng, X., & Lin, L. (2020). Induced cultivation pattern enhanced the phycoerythrin production in red alga *Porphyridium purpureum*. *Bioprocess Biosyst Eng*, 43(2), 347-355.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

The Effects of Atmospheric and Pressure Frying Processes on the Quality Characteristics of Meatballs

Şeyma ŞİŞİK OĞRAŞ*¹

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-9051-5555>

*Corresponding author e-mail: seymasisik@atauni.edu.tr

Article Info

Received: 10.09.2021

Accepted: 27.01.2022

Online Published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1010069

Keywords

Meatball,
Frying,
Pressure frying,
Texture

Abstract: In the study, it was aimed to determine the effect of atmospheric and pressure frying on some quality properties of meatballs. For this purpose, meatballs have been subjected to deep frying process using hazelnut oil in atmospheric and pressure conditions. Fried meatball samples were analyzed in terms of pH, % moisture, TBARS (thiobarbutyric acid reactive substance), and instrumental color (internal and external surface). The meatballs were also tested for their instrumental texture properties. The frying factor had a significant effect ($p<0.05$) on the moisture value and a very significant effect ($p<0.01$) on the TBARS value of meatballs. The % moisture values of the samples fried in atmospheric conditions were determined lower than the samples fried in pressurized conditions. The pressure frying process reduced the TBARS value and increased the L*, a*, and b* values of the internal surface. This method resulted in an increase in the L* value and a decrease in the b* value in the external surface ($p<0.05$). The frying repeat factor generally caused a decrease in the internal and external surface colors. The pressure frying process increased the hardness, adhesiveness, resilience, and cohesiveness values of the meatball samples. However, the frying method did not have a significant effect on the springiness ($p>0.05$). The frying number caused a decrease in all texture parameters except the gumminess value.

To Cite: Şişik Oğraş, Ş., 2022. The Effects of Atmospheric and Pressure Frying Processes on the Quality Characteristics of Meatballs. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 89-97. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1010069>

Atmosferik ve Basıncı Kızartma İşlemlerinin Köftenin Kalite Özelliklerine Etkileri

Makale Bilgileri

Geliş: 10.09.2021

Kabul: 27.01.2022

Online Yayınlanma: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1010069

Anahtar Kelimeler

Köfte,
Kızartma,
Basıncı kızartma,
Teskür

Öz: Araştırmada atmosferik ve basınçlı kızartmanın köftelerin bazı kalite özelliklerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla köfteler atmosferik ve basınçlı koşullarda fındık yağı kullanılarak derin yağda kızartma işlemine tabi tutulmuştur. Kızartılmış köfte örnekleri pH, % nem, TBARS (tiyobarbutirik asit reaktif substans) ve enstrümental renk (iç ve dış kesit yüzeyi) yönünden analiz edilmiştir. Köfteler enstrümental tekstür özellikleri açısından da test edilmiştir. Kızartma faktörü köftenin nem değeri üzerinde önemli ($p<0.05$), TBARS değeri üzerinde ise çok önemli ($p<0.01$) etki göstermiştir. Atmosferik koşullarda kızartılan örneklerin % nem değerleri basınçlı koşullarda kızartılan örnekler göre daha düşük belirlenmiştir. Basıncı kızartma işlemi TBARS değerini düşürmüş, iç kesit yüzeyi L*, a* ve b* değerlerini artırmıştır. Bu yöntem dış kesit yüzeyinde L* değerinde artışa, b* değerinde ise düşüşe neden olmuştur

($p < 0.05$). Kızartma tekrar sayısı faktörü ise iç ve dış kesit yüzey renk değerlerini genel olarak düşürmüştür. Basınçlı kızartma işlemi köftenin sertlik, yapışkanlık, esneklik, ve kohesivlik değerlerini artırmıştır. Buna karşın elastikiyet değeri üzerinde kızartma yöntemi önemli bir etki göstermemiştir ($p > 0.05$). Kızartma sayısı ise sakızimsılık değeri hariç bütün tekstür parametrelerinde düşüşe neden olmuştur.

1. Giriş

Derin yağda kızartma, genellikle 165-190 °C gibi yüksek sıcaklıklarda atmosferik koşullarda uygulanan bir pişirme yöntemi olup, yağ absorpsiyonu, yüzeyde kabuk oluşumu, kızartma tat ve kokusunun gelişimine bağlı olarak ürünün lezzetine katkıda bulunmaktadır. Derin yağda kızartma işlemi atmosferik, düşük (vakum) veya yüksek basınç koşullarında uygulanabilmektedir. Atmosferik koşullarda kızartma 165-190 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmekte ve istenilen renk ve tekstürde ürünler elde edilmektedir (Moreira, 2002). Bu yöntemin sebze ve bazı et ürünlerindeki olumsuz etkilerinden dolayı özellikle son yıllarda düşük ve yüksek basınç gibi alternatif kızartma yöntemleri sıklıkla gündeme gelmektedir. Vakum kızartma (düşük basınç), 6.65 kPa altındaki basınçlarda meyve ve sebzeler gibi hassas ürünlerde uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemle 90°C gibi düşük sıcaklıklarda atmosferik kızartmadaki özelliklere benzer ürün özellikleri elde edilebilmektedir. Yaklaşık 184 kPa basınç altında uygulanan yüksek basınçlı kızartma işlemi ise, genellikle baget, kanat gibi kemikli kanatlı etlerinde tercih edilmekte ve bu etlerde yüksek basıncın etkisiyle sulu, homojen pişirilmiş ve çıtır ürünler hazırlanabilmektedir (Ballard ve Mallikarjunan, 2006; Moreira, 2014).

Kızartma yağları kızartma işleminde hem ısı transfer aracı olması hem de tekstür ve aroma oluşumuna katkıları nedeniyle önem arz etmektedir (Debnath ve ark., 2012). Ticari kızartma işleminde, kızartma yağları birkaç kez kullanılabilir ve bu uygulamadan dolayı son ürünlerde sağlık açısından riskli uçucu ve uçucu olmayan bileşikler oluşabilmektedir (Takeoka ve ark., 1997). Kızartma işlemi sırasında aynı yağın tekrarlı kullanımı neticesinde ortaya çıkan bu bileşikler ve bozulma ürünleri yağ ve gıdanın tat, koku, renk ve tekstüründe arzu edilmeyen değişimlere neden olurken aynı zamanda raf ömrünü de kısaltmaktadır (Bhattacharya ve ark., 2008). Tekrarlı kızartma işleminin yağ kalitesine etkisini belirlemeye yönelik pek çok çalışma (Jaswir ve ark., 2000; Yılmaz ve Aydeniz, 2014) yürütülmüştür. Tekrarlı kızartma işleminin ürün özelliklerine etkisini belirlemeye yönelik çalışma sayısı ise oldukça sınırlı ve belirli ürünleri belirlemeye (Enríquez-Fernández ve ark., 2011; Debnath ve ark., 2012) yöneliktir.

Fast food ve hazır yemek gibi tüketime hazır gıda ürünlerine talep gün geçtikçe artmaktadır. Her iki sektörde tüketici taleplerini karşılamak ve ürün çeşitliliğini artırmak amacıyla farklı pişirme yöntemleri uygulanmaktadır. Bu yöntemler arasında derin yağda kızartma işlemi, patates, mısır cipsi, deniz ürünleri, nugget ve köfte gibi kanatlı ve kırmızı et ürünleri gibi pek çok ürün grubunun hazırlanmasında en çok kullanılan yöntemdir (Gaduraju ve ark., 2015). Köfte, kıyma haline getirilmiş etin çeşitli katkı maddeleri (baharat, kıyılmış soğan, sarımsak vb.) ile karıştırılması suretiyle üretilen önemli et ürünlerinden biri olup bu ürünün hazırlanmasında en çok tercih edilen yöntemlerden biri derin yağda kızartma işlemidir (Öz ve ark., 2017). Alternatif kızartma yöntemi olan basınçlı kızartma yönteminin araştırıldığı çalışma sayısı ise oldukça azdır (Ballard ve Mallikarjunan, 2006; Innawong ve ark., 2006; Erdoğan ve Dejmek, 2010). Köftenin basınçlı koşullarda kızartılmasına yönelik bir araştırmaya ise literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada iki farklı kızartma yöntemi (atmosferik ve basınçlı kızartma) ile fındık yağında tekrarlı (5 kez) kızartma işleminin köftelerin bazı fizikokimyasal (pH, nem, renk, TBARS) ve enstrümantal tekstür (sertlik, yapışkanlık, kohesivlik, elastikiyet, esneklik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik) özelliklerine etkileri araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Köfte üretiminde dana karkasının but kısmından çıkarılan parça etler kullanılmıştır. Köfte üretiminde kullanılan tuz ve ekmek kırıntısı Erzurum piyasasından temin edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Köfte üretimi

Köfte üretimi için hazırlanan etler önce kıyma makinasından (Arzum, AR 160) (3mm'lik ayna) geçirilerek kıyma haline getirilmiştir. Köfte hamuruna % 5 oranında ekmek kırıntısı, % 2 oranında tuz ilave edilerek elle yoğurulmuştur. Bu şekilde hazırlanan köfte hamuru şekil verilmeden önce 4 °C'de 1 saat süreyle bekletilmiştir. Dinlendirilen hamur kalıpla (Çap 6.5 cm × yükseklik 1.5 cm) şekil verildikten sonra -20 °C'de kızartma işlemine kadar dondurulmuş olarak muhafaza edilmiştir. Her bir muamele için iki kez üretim yapılmıştır.

2.2.2. Kızartma işlemleri

Kızartma koşulları Çizelge 1'de verilmiştir. Kızartma işlemi aynı yağ kullanılarak 5 kez tekrarlanmıştır. Her kızartma işleminden sonra yağın 25 °C'ye soğuması beklenmiş ve numune alınmıştır. Kızartma işleminde ürün yağ oranı (1:10) da aynı seviyede tutulmuştur.

Çizelge 1. Kızartmada uygulanan koşullar

İşlemler	Koşullar
Kızartma Makinesi	MARKFRY 1014, Türkiye, PD tipi kızartma cihazı (sepet + kapak)
Kızartma Yöntemi	Atmosfer/Basınç koşullarında derin yağda kızartma
Yağ Cinsi	Fındık yağı
Yağ Miktarı	11 L
İşlem Sıcaklığı	Atmosferik-180°/Basıncı-160°
Kızartma Süreleri	Atmosferik-2/Basıncı-3 dak.
Basınç Koşulu	2 bar
Kızartma Tekrar Sayısı	5
Kızartma Ürünü	Köfte
Köfte boyutları	6.5 ×1.5 cm

2.2.3. Örneklerin alınması ve analize hazırlanması

Analizler için kızartma işleminden sonra köfteler 25 °C'ye soğutulmuş ve her bir muamele grubundan 3 paraleli olarak örnekler alınmış ve analizlere tabi tutulmuştur.

2.3. Analizler

2.3.1. Nem miktarı

Homojen haline getirilen yaklaşık 10 g köfte örneği daha önceden 105 °C'de kurutulmuş ve darası alınmış kaplara tartıldıktan sonra 105 °C'deki etüvde (Mettler 400) sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Ağırlık kayıpları dikkate alınarak nem miktarı % olarak belirlenmiştir (Gökalp ve ark., 2001).

2.3.2. pH

Köfte örneklerinin pH değerlerini belirlemek için 10'ar gram tartılıp üzerine 100 ml saf su ilave edilerek 1 dak. homojenize (Ultra-Turrax, IKA Werk Tp 18-10 20.000 UpM) edilmiştir. Homojenizatların pH değerleri ölçülmeden önce pH metre (Mettler Toledo Ion S220, İsviçre) pH 4.0 ve pH 7.0'lik tampon çözeltiler kullanılarak kalibre edilmiştir (Gökalp ve ark., 2001).

2.3.3. Tiyoobarbiturik Asit Reaktif Maddeler (TBARS)

TBARS analizi için homojen hale getirilen örneklerden 2'şer gram paralelli olarak tartılarak üzerine 12 ml TCA çözeltisi (% 7.5 TCA, % 0.1 EDTA ve % 0.1 Propil galat (3 ml etanolde çözündürülmüş)) ilave edilmiş ve Ultra Turrax (IKA Werk Tp 18-10 20.000 UpM) ile 15-20 s orta hızda homojenize edilmiştir. Karışım daha sonra Whatman 1 filtre kağıdından süzülerek deney tüplerine 3 ml alınmış ve üzerine 3 ml 0.02 M TBA çözeltisinden ilave edilerek vortekslenmiştir. Deney tüpleri kaynayan su banyosunda 40 dak. bekletilmiş ve 5 dak. akan musluk suyunda soğutulmuştur. Bu işlemten sonra Spektrofotometrede (Shimadzu Spectrophotometer UV-120-01) 532 nm'lik dalga

boyunda köre karşı absorbans değeri belirlenmiştir. Elde edilen absorbans değerinden ve TEP (1,1,3,3 tetraethoxypropane) standardı kullanılarak belirlenerek standart kürveden faydalanılarak TBARS değeri hesaplanmıştır (Lemon, 1975).

2.3.4. Renk analizi

Köfte örneklerinin renk yoğunlukları köftelerin iç ve dış kesit yüzeyinden 3 paralelli olacak şekilde Minolta (CR-200, Minolta Co, Osaka, Japan) kolorimetresi kullanılarak belirlenmiştir. L^* , a^* ve b^* değerleri üç boyutlu renk ölçümünü esas alan Uluslararası Aydınlatma Komisyonu CIELAB (Commision Internationale de l'E Clairage) tarafından verilen kriterlere (L^* değeri; $L=0$, siyah; $L=100$, beyaz (koyuluk/açıklık); a^* değeri; $+a$ =kırmızı, $-a$ =yeşil; b^* değeri; $+b$ =sarı, $-b$ =mavi renk) göre yapılmıştır.

2.3.5. Tekstür profil analizi (TPA)

Köfte örneklerinin enstrümental tekstür özelliklerinin (sertlik, yapışkanlık, kohesivlik, elastikiyet, esneklik, sakızimsılık, çignenebilirlik) belirlenmesinde tekstür profil analiz cihazı (CT3, Brookfield Engineering Laboratories, USA) kullanılmıştır. Silindirik boyutlu (20 mm çap ve 10 mm yükseklik) örnekler alınarak tekstür profil analiz cihazında silindirik prob kullanılarak sıkıştırılma çevrimi ile oda sıcaklığında analiz gerçekleştirilmiştir. TPA'da kullanılan işlem şartları; ön test hızı 1 mm/s, test sonrası hızı 2 mm/s, sıkıştırma oranı % 50 ve iki sıkıştırma arası 5 s olacak şekilde uygulanmıştır. Tekstürel parametreler (sertlik, elastikiyet, yapışkanlık, kohesivlik, esneklik, sakızimsılık, çignenebilirlik) bir güç-süre grafiği kullanılarak belirlenmiştir (Bourne, 1978).

2.4. İstatistiksel analizler

Araştırmada pişirme yöntemi (atmosferik ve basınçlı kızartma) ve kızartma tekrar sayısı (1, 2, 3, 4 ve 5) faktör olarak alınmış, denemeler 2×5 faktöriyel düzende tam şansa bağlı deneme planına göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve yürütülmüştür. Elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 20 paket program kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve istatistiki açıdan önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Nem miktarı, pH ve TBARS değerleri

Farklı kızartma yöntemleri (atmosferik ve basınçlı) ve kızartma sayısı (5 tekrar) kullanılarak fındık yağı ile üretilen köfte örneklerinin % nem, pH ve TBARS değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Köftelerin nem miktarı üzerinde kızartma yöntemi önemli ($p < 0.05$), kızartma sayısı ise çok önemli ($p < 0,01$) düzeyde etkili olmuştur. Nem içeriği (%) basınçlı kızartılmış köftelerde (% 55.99), atmosferik koşullarda kızartılan köftelere (% 54.84) göre daha yüksek tespit edilmiştir. Kızartma tekrar sayısı arttıkça nem değeri düşmüştür. Kızartma sıcaklığı ve uygulanan basınç işlemi ürünün nem içeriği üzerinde oldukça etkili olmakta ve yağ sıcaklığındaki artışla üründe meydana gelen dehidrasyon sonucu üründen hızlı nem çıkışı meydana gelmektedir (Innawong ve ark., 2006). Araştırmada basınçlı kızartmada belirlenen bu yüksek nem içeriğinin kızartmanın daha düşük sıcaklıkta yapılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı kızartma yöntemlerinin nugget üzerine etkisini belirlemeye yönelik yürütülen bir çalışmada da atmosferik kızartma işleminde nem değerinin (% 57.19), basınçlı kızartma işlemine göre (% 58.50) daha düşük olduğu belirlenmiştir (Kaplan, 2020). Das ve ark. (2003) da benzer şekilde tavuk örneklerinde nem içeriklerinin basınçlı koşullarda daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Atmosferik ve basınçlı koşullarda gerçekleştirilen kızartma işleminde köfte örneklerinin pH değerleri 6.01-6.03 arasında değişmiştir. Kızartma yönteminin örneklerin pH değeri üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır ($p > 0.05$). Aynı şekilde kızartma sayısı ve kızartma yöntemi \times kızartma sayısı interaksyonunun da pH değeri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Derin yağda atmosferik ve basınçlı koşullarda gerçekleştirilen kızartma işlemlerinin karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada da pH değeri açısından önemli bir farklılık belirlenmemiştir (Das ve ark., 2013).

Çizelge 2. Farklı pişirme yöntemleri ve tekrarlı kızartma işlemi uygulanarak pişirilen köftelerin nem, pH ve TBARS değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

	Nem (%)	pH	TBARS ($\mu\text{mol MDA/kg}$)
<i>Kızartma Yöntemi (KY)</i>			
Atmosferik	54.84 \pm 2.81 ^a	6.01 \pm 0.04 ^a	39.35 \pm 6.85 ^a
Basınçlı	55.99 \pm 1.84 ^b	6.03 \pm 0.06 ^a	29.44 \pm 5.52 ^b
	*	Öd	**
<i>Kızartma Sayısı (KS)</i>			
1	57.78 \pm 0.95 ^a	6.03 \pm 0.04 ^a	28.48 \pm 7.78 ^c
2	56.97 \pm 1.68 ^{ab}	6.03 \pm 0.07 ^a	33.30 \pm 8.86 ^{bc}
3	55.66 \pm 0.90 ^b	6.01 \pm 0.03 ^a	33.68 \pm 6.36 ^{bc}
4	53.75 \pm 1.90 ^c	6.02 \pm 0.09 ^a	34.85 \pm 6.40 ^b
5	52.94 \pm 2.24 ^c	6.03 \pm 0.04 ^a	41.68 \pm 5.97 ^a
	**	Öd	**

a-c: Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki açıdan fark yoktur ($p > 0.05$).
** : $p < 0.01$.
* : $p < 0.05$.
Öd: önemli değil.

Kızartma işlemindeki yüksek sıcaklıklarda atmosferik oksijen yağ ile birlikte oksidatif değişikliklere neden olmaktadır. Lipid oksidasyonu bu nedenle son ürün kalite ve güvenliğini belirleyen önemli bir faktördür. Ette aroma ve kötü tat oluşumuna katkıda bulunan ikincil oksidasyon ürünlerinin bir ölçüsü olan TBARS değeri üzerinde, kızartma yöntemi ve kızartma sayısı faktörleri çok önemli ($p < 0.01$) etki göstermiştir. Analiz sonuçlarına göre atmosferik koşullarda gerçekleştirilen kızartma işlemi ile köftelerin TBARS değeri (39.35 $\mu\text{mol MDA/kg}$), basınçlı koşullarda (29.44 $\mu\text{mol MDA/kg}$) gerçekleştirilen kızartma işlemine göre daha yüksek bir değer vermiştir (Çizelge 2). Lipid oksidasyonu yağ kalitesi üzerinde oldukça büyük bir öneme sahip olup, özellikle atmosferik koşullarda gerçekleşen kızartmada oksijen en önemli oksidasyon nedenlerinden biridir. Kızartma işleminde oksijen seviyesinin düşürülmesinin oksidasyonu önlemede en etkin yöntemlerden biri olduğu belirtilmektedir. Basınç uygulanarak pişirilen köftelerde TBARS değerinin düşük çıkmasının bu koşullardaki oksijen seviyesinin atmosferik koşullara göre daha düşük seviyede olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer sonuçların belirlendiği diğer bir çalışmada kızartılmış tavuk etlerinde TBA değerleri atmosferik koşullarda 0.35-0.56 $\mu\text{mol MDA/kg}$, basınçlı koşullarda ise 0.28-0.31 $\mu\text{mol MDA/kg}$ aralığında belirlenmiştir (Das ve ark., 2003). Kızartma işleminde yağın tekrar tekrar kullanımının yağ içerisinde kızartan gıdanın lezzeti, rengi ve tekstürü üzerinde önemli etkileri olmaktadır (Stevenson ve ark., 1984). Mevcut bu araştırmada tekrarlı kızartma işleminin köftelerin TBARS değeri üzerinde çok önemli ($p < 0.01$) etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. İlk kızartma sonucunda köftelerin TBARS değeri 28.46 $\mu\text{mol MDA/kg}$ olarak belirlenirken 5. kızartma sonucunda bu değer 41.68 $\mu\text{mol MDA/kg}$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2).

3.2. Renk analizi

Kızartılan ürünlerin en önemli kalite özelliklerinden biri olan renk, ürüne uygulanan kızartma süre ve sıcaklığı, protein denatürasyonu, nişastanın jelatizasyonu ve maillard reaksiyonu gibi faktörlerden etkilenmektedir (Innawong ve ark., 2006; Devresen ve ark., 2016). Kızartma yönteminin, örneklerin iç kesit yüzey L^* ve a^* değerleri üzerinde önemli, b^* değeri üzerinde ise çok önemli etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Basınçlı koşullarda gerçekleştirilen kızartma işlemi bu üç renk parametresini de artırmıştır. Kızartma yöntemlerinin karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada da basınçlı kızartmanın atmosferik kızartmaya göre daha yüksek a^* değeri verdiğini bildirilmiştir. Aynı çalışmada kızartma yönteminin L^* ve b^* değeri üzerinde bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Innawong ve ark., 2006).

Çizelge 3. Farklı pişirme yöntemleri ve tekrarlı kızartma işlemi uygulanarak pişirilen köftelerin L*, a* ve b* değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

	Renk özellikleri					
	İç kesit			Dış kesit		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
<i>Kızartma Yöntemi (KY)</i>						
Atmosferik	46.50±2.13 ^a	8.69±0.80 ^a	11.54±0.56 ^a	28.49±2.93 ^a	6.21±0.79 ^a	7.76±1.08 ^a
Basınçlı	47.71±1.97 ^b	9.04±0.83 ^b	12.26±1.45 ^b	29.70±2.21 ^b	6.00±0.57 ^a	6.57±0.80 ^b
	*	*	**	*	Öd	**
<i>Kızartma Sayısı (KS)</i>						
1	49.30±1.25 ^a	9.61±0.63 ^a	12.12±1.29 ^{ab}	32.82±1.43 ^a	6.88±0.54 ^a	7.95±0.97 ^a
2	48.44±0.92 ^a	9.11±0.66 ^a	11.31±0.26 ^b	29.02±1.38 ^b	6.10±0.22 ^b	7.11±0.57 ^{ab}
3	46.09±2.25 ^b	9.04±0.97 ^a	12.89±1.78 ^a	29.21±1.47 ^b	6.20±0.94 ^b	7.08±1.96 ^{ab}
4	46.29±1.53 ^b	8.12±0.65 ^b	11.51±0.78 ^b	28.26±0.99 ^b	5.74±0.36 ^b	6.65±0.24 ^b
5	45.40±1.60 ^b	8.45±0.26 ^b	11.66±0.42 ^b	26.16±2.25 ^c	5.62±0.41 ^b	7.04±0.94 ^{ab}
	**	**	**	**	**	Öd

a-c: Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki açıdan fark yoktur (p>0.05).

** : p < 0.01.

* : p < 0.05.

Öd: Önemli değil.

Basınçlı kızartma işleminde azot gazı veya buhar (gıdadan çıkan) kullanımının nuggetlara etkisinin belirlendiği bir çalışmada, buharla kızartılan ürünlerin L* değerinin azot gazı ile kızartılan ürünlere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Enriquez-Fernandez ve ark., 2011). Kızartma tekrar sayısı arttıkça köftelerin iç kesit yüzeyindeki renk parametreleri düşüş göstermiştir (Çizelge 3). Atmosferik koşullarda tavuk örnekleri üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada da benzer şekilde tekrar sayısı arttıkça L* değerinde düşüş meydana geldiği belirlenmiştir (Sunisa ve ark., 2011). Kızartma yöntemi × kızartma sayısı interaksiyonunun ise L* değeri üzerinde önemli bir etkisi olmazken (p>0.05), a* ve b* değerleri üzerinde çok önemli etkileri gözlemlenmiştir (p<0.01). Köfte örneklerinin dış kesit yüzeyinde ise, parlaklığın göstergesi olan L* değeri basınçlı kızartma işleminde artış göstermiştir. Buna karşın sarı renk yoğunluğunun göstergesi olan b* değeri düşmüştür (Çizelge 3). Kırmızılığın göstergesi olan a* değerinde ise önemli bir değişim gözlemlenmemiştir (p>0.05). 1. Kızartma işlemi sonucunda örneklerin L* ve a* değerleri 32.82 ve 6.88 olarak belirlenmiş, buna karşın 5.kızartma işlemi sonucunda bu değerler sırasıyla 26.16 ve 5.62 değerlerine düşmüştür. Diğer taraftan kızartma sayısının köfte örneklerinin dış yüzey b* değeri üzerinde önemli bir etkisi olmadığı tespit saptanmıştır (p>0.05) (Çizelge 3).

3.3. Tekstür profil analizi

Basınçlı kızartma yöntemi bir örneği sıkıştırmak için sarf edilen maksimum kuvvetin göstergesi olan (Herrero ve ark., 2007) sertlik değeri (N) üzerinde önemli bir artışa neden olmuştur. Teruel ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada da vakum altında kızartma işleminde gevrekliğin arttığı rapor edilmiştir. Mevcut bu araştırmada 2.kızartma 1. kızartmaya göre daha düşük değer vermekle birlikte istatistiki açıdan önemli bir farklılık vermemiştir. 3., 4. ve 5. kızartmalar 1. ve 2. kızartmaya göre daha düşük değerler vermiş, ancak bu kızartmalara ait ortalamalar istatistiki açıdan farklı bulunmamıştır. Bu sonuçlar 2. kez kızartmanın sertlikte önemli bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir. Yapışkanlık (mJ), sıkıştırıcı pistonu numuneden uzaklaştırmak için gerekli kuvvetin bir göstergesi olarak dikkate alınan bir parametredir (Andress ve ark., 2006). Kızartma yöntemi örneklerin yapışkanlık değeri üzerinde önemli (p<0.05) etkiye sahiptir. Atmosferik koşullarda gerçekleştirilen kızartma işleminde (8.69 mJ) basınçlı kızartma (9.04 mJ) işlemine göre daha düşük bir değer belirlenmiştir. Yapışkanlık değeri 1. kızartmada 9.61 mJ olarak belirlenirken tekrar sayısı arttıkça bu değer düşüş göstermiştir. Ancak 2. ve 3. kızartma sayılarına ait ortalamalar 1. kızartma sayısına ait ortalamadan istatistiki olarak bir farklılık göstermemiştir (p>0.05). Kızartmanın 4. ve 5. tekrarında yapışkanlık değeri düşmüş (p<0.05), bununla birlikte bu iki kızartma sayısına ait ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı bulunmamıştır (p>0.05).

Çizelge 4. Farklı pişirme yöntemleri ve tekrarlı kızartma işlemi uygulanarak pişirilen köftelerin tekstürel parametrelerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

	Sertlik (N)	Yapışkanlık (mJ)	Esneklik	Kohesivlik	Elastikiyet (mm)	Sakızimsılık (N)	Çiğnenebilirlik (mJ)
<i>Kızartma Yöntemi (KY)</i>							
Atmosferik	46.50±2.13 ^a	8.69±0.80 ^a	11.54±0.56 ^a	28.49±2.93 ^a	6.21±0.79 ^a	7.76±1.08 ^a	6.21±0.79 ^a
Basınçlı	47.71±1.97 ^b	9.04±0.83 ^b	12.26±1.45 ^b	29.70±2.21 ^b	6.00±0.57 ^a	6.57±0.80 ^b	6.00±0.57 ^a
	*	*	**	*	Öd	**	Öd
<i>Kızartma Sayısı (KS)</i>							
1	99.30±1.25 ^a	9.61±0.63 ^a	12.12±1.29 ^{ab}	2.82±1.43 ^a	6.88±0.54 ^a	7.95±0.97 ^a	6.88±0.54 ^a
2	48.44±0.92 ^a	9.11±0.66 ^a	11.31±0.26 ^b	29.02±1.38 ^b	6.10±0.22 ^b	7.11±0.57 ^{ab}	6.10±0.22 ^b
3	46.09±2.25 ^b	9.04±0.97 ^a	12.89±1.78 ^a	29.21±1.47 ^b	6.20±0.94 ^b	7.08±1.96 ^{ab}	6.20±0.94 ^b
4	46.29±1.53 ^b	8.12±0.65 ^b	11.51±0.78 ^b	28.26±0.99 ^b	5.74±0.36 ^b	6.65±0.24 ^b	5.74±0.36 ^b
5	45.40±1.60 ^b	8.45±0.26 ^b	11.66±0.42 ^b	26.16±2.25 ^c	5.62±0.41 ^b	7.04±0.94 ^{ab}	5.62±0.41 ^b
	**	**	**	**	**	Öd	**

a-c: Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki açıdan fark yoktur (p>0.05).

** : p < 0.01.

* : p < 0.05.

Öd: Önemli değil

Deformasyona maruz kalan bir örneğin geri kazanımı olarak tanımlanan esneklik (Bourne, 1982) üzerinde kızartma yöntemi ile kızartma sayısı çok önemli etkide bulunmuştur (p<0.01). Esneklik değeri yapışkanlık ve sertlik değerinde olduğu gibi basınçlı kızartma atmosferik kızartmaya göre daha yüksek bir ortalama değer vermiştir (p<0.05). Kızartma sayısının 1'den 2 veya 3'e çıkarılması esneklik değerinde önemli bir etki göstermemiştir. (p>0.05) Buna karşın 3. Kızartma 4 ve 5'ten daha yüksek bir ortalama değer vermiştir Ayrıca 2, 4 ve 5. kızartma işlemlerine ait ortalamalar arasında da önemli bir farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Kohesivlik örneğin kopmadan önceki deformasyon derecesinin bir ölçüsü olarak tanımlanmaktadır (Herrero ve ark., 2007). Farklı kızartma yöntemleri (atmosferik ve basınçlı) ve kızartma sayısı kullanılarak üretilen köfte örneklerinin kohesivlik değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir. Kohesivlik üzerinde kızartma yöntemi önemli (p<0.05), kızartma sayısı ise çok önemli (p<0.01) bir etkide bulunmuştur. Basınçlı kızartma atmosferik koşullardaki kızartma işlemine göre daha yüksek bir ortalama değer vermiştir (Çizelge 4). Das ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada basınçlı ve atmosferik kızartma işleminin kohesivlik üzerinde etkili olmadığı bildirilmiştir. Kızartma sayısı arttıkça kohesivlik değerinde düşüş gözlenmiştir. Bununla birlikte 2, 3 ve 4. kızartmalar arasında istatistiki açıdan önemli bir farklılık gözlenmemiştir. En düşük ortalama kohesivlik değerini 5.kızartma vermiştir. Bu sonuca göre 5. kızartma ürünün kohesivlik değerinde önemli düşüşe neden olmaktadır.

Örneğe uygulanan deformasyon kuvveti ortadan kalktıktan sonra örneğin orijinal şekline dönme yeteneği olarak tanımlanan diğer önemli bir tekstürel parametre olan (Herrero ve ark., 2007) elastikiyet üzerinde kızartma yöntemimin herhangi önemli bir etkisi (p >0.05) olmamıştır. Benzer şekilde konu ile ilgili yürütülen diğer bir çalışmada elastikiyet değeri açısından kızartma yönteminin bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Das ve ark., 2013). Kızartma sayısının elastikiyet üzerinde p<0.01 düzeyinde etki gösterdiği saptanmıştır. En yüksek ortalama değeri 1. kızartma vermiştir. Diğer kızartma sayıları arasında ise istatistik açıdan önemli bir farklılık görülmemiştir (p>0.05). Diğer taraftan basınçlı kızartma daha düşük bir ortalama sakızimsılık değeri vermiştir (p<0.05). Kızartma sayısının ise bu tekstür parametresi üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır (Çizelge 4).

Numunenin parçalara ayrılıp yutmaya hazır duruma getirilmesi için gerekli enerjiyi ifade eden bir parametre olan çiğnenebilirlik (mJ) değeri, elastikiyet değerinde olduğu gibi kızartma yönteminden etkilenmemiştir (p>0.05). Buna karşın kızartma sayısı bu parametre üzerinde çok önemli (p<0.01) düzeyde etkili olmuştur (Çizelge 4). Elastikiyet parametresinde olduğu gibi en yüksek ortalama değer 1. kızartmada belirlenmiştir (p<0.05). Diğer kızartma seviyelerinde ise bu parametre açısından önemli farklılıklar gözlemlenmemiştir (p>0.05).

4. Sonuç

Sonuç olarak basınçlı kızartma ürün renk özellikleri ve lipid oksidasyonu açısından atmosferik kızartmaya göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Basınçlı kızartma esneklik değerini artırmakta,

sakızimsılık değerini ise düşürmektedir. Bu kızartma yöntemi az da olsa sertlik ve yapışkanlık değerinde artışa neden olmaktadır.

TBARS değeri 5. kızartmadan sonra önemli derecede artmakta buna karşın, parlaklığın ölçüsü olan L değeri ise kızartma sayısı arttıkça düşüş göstermektedir. Kızartma sayısı tekstürel parametreler üzerinde de farklı etkiler göstermektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından BAP 2016/270 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynakça

- Ballard, T. S., & Mallikarjunan, P. (2006). The effect of edible coatings and pressure frying using nitrogen gas on the quality of breaded fried chicken nuggets. *Journal of Food Science*, 71(3), 259-264.
- Bhattacharya, A. B., Sajilata, M. G., Tiwari, S. R., & Singhal, R. S. (2008). Regeneration of thermally polymerized frying oils with adsorbents. *Food Chemistry*, 110(3), 562-570.
- Bourne, M. C. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 32:62-72p.
- Bourne, M. C. (1982). *Food textures and viscosity: concept and measurement*. New York:Academic Press.
- Das, R., Pawar, D. P., & Modi, V. K. (2013). Quality characteristics of battered and fried chicken: Comparison of pressure frying and conventional frying. *Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 284-292.
- Debnath, S., Rastogi, N. K., Krishna, A. G., & Lokesh, B. R. (2012). Poori'nin derin yağda kızartması sırasında kızartma döngülerinin pirinç kepeği yağının fiziksel, kimyasal ve ısı transfer kalitesi üzerindeki etkisi: Hint geleneksel kızarmış yiyecekler. *Gıda ve Biyokütle İşleme*, 90(2), 249-256.
- Enríquez-Fernández, B. E., Álvarez de la Cadena y Yañez, L., & Sosa-Morales, M. E. (2011). Comparison of the stability of palm olein and a palm olein/canola oil blend during deep-fat frying of chicken nuggets and French fries. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(6), 1231-1237.
- Erdoğan, F., & Dejmek, P. (2010). Patateslerin yüksek basınçlı kızartması sırasında ısı transfer katsayısının belirlenmesi. *Gıda mühendisliği dergisi*, 96(4), 528-532.
- Gökalp, H. Y., Kaya M., Tülek, Y., & Zorba, Ö. (2001). *Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu*. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yay. No:318 Erzurum.
- Herrero, A. M., Ordóñez, J. A., de Avila, R., Herranz, B., De la Hoz, L., & Cambero, M. I. (2007). Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. *Meat science*, 77(3), 331-338.
- Innawong, B., Mallikarjunan, P., Marcy, J., & Cundiff, J. (2006). Pressure conditions and quality of chicken nuggets fried under gaseous nitrogen atmosphere. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(2), 231-245.
- Jaswir, I., Man, Y.B.C. & Kitts, D.D. (2000). Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. *Food research international*, 33(6), 501-508.
- Kaplan, H. (2020). *Atmosferik ve basınçlı kızartmanın hindi nuggetlarının bazı kalite özellikleri ile kızartma yağ kalitesine etkisi* (Yüksek lisans tezi). Atatürk Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Lemon, D. W. (1975). *An Improved TBA Test for Rancidity New Series Circular*. No:51.
- Moreira, R. G. (2002). Department of Biological and Agricultural Engineering, Texas A&M University, College Station, TX, USA. *Deep-fat frying*, 210-237.
- Moreira, R. G. (2014). Vacuum frying versus conventional frying—An overview. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(6), 723-734.

- Öz, F., Zaman, A., & Kaya, M. (2017). Effect of chitosan on the formation of heterocyclic aromatic amines and some quality properties of meatball. *J. of Food Processing and preservations*, 41(4), 1-17.
- Stevenson, S. G., Vaisey-Genser, M., & Eskin, N. A. M. (1984). Derin kızartma yağlarının kullanımında kalite kontrolü. *Amerikan Petrol Kimyagerleri Derneği Dergisi*, 6(6), 1102-1108.
- Sunisa, W., Worapong, U., Sunisa, S., Saowaluck, J., & Saowakon, W. (2011). Quality changes of chicken frying oil as affected of frying conditions. *Int. Food Research Journal.*, 18, 615-620.
- Takeoka, G. R., Full, G. H., & Dao, L. (1997). Effect of heating on the Characteristics and Chemical Composition of Selected Frying Oils and Fats. *J. Agric. Food Chem.*, 45(8), 3244–3249.
- Teruel, M. R., García-Segovia, P., Martínez-Monzó, J., Linares, M. B., & Garrido, M. D. (2014). Use of vacuum-frying in chicken nugget processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 482-489.
- Yılmaz, E., & Aydeniz, B. (2014). Farklı doğal antioksidanların kızartma süresince yer fıstığı yağının fiziksel özellikleri üzerine etkileri. *Academic Food Journal*, 12(1).



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Essential Oil Chemical Composition of Lavender Varieties Cultivated in an Untraditional Agro-Ecological Region

**Rumyana GEORGIEVA^{*1}, Hristofor KIRCHEV², Vanya DELIBALTOVA³
Aleksandar MATEV⁴, Petar CHAVDAROV⁵, Tzvetanka RAYCHEVA⁶**

^{1,2,3}Agricultural University, Faculty of Agronomy, Crop Science Department 4000, Plovdiv, Bulgaria

⁴Agricultural University, Faculty of Horticulture with Viticulture, Department of Meliorations, Land Regulation and Agrophysics 4000, Plovdiv, Bulgaria

⁵Institute of Plant Genetic Resources "Konstantin Malkov 4122, Sadovo, Bulgaria

⁶Agricultural University, Faculty of Agronomy, Department of Botany and Agrometeorology 4000, Plovdiv, Bulgaria

¹<https://orcid.org/0000-0003-3653-3960>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5555-5255>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9449-4800>
⁴<https://orcid.org/0000-0002-5203-9260>, ⁵<https://orcid.org/0000-0003-1441-4119>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-9968-9017>

*Corresponding author e-mail: rumyana.georgieva.88@gmail.com

Article Info

Received: 21.09.2021

Accepted: 23.02.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.998772

Keywords

Lavender,
Linalool,
Linalyl acetate

Abstract: A field experiment has been conducted in the region of Dobrudja with the aim to investigate the essential oil yield and its chemical composition by four lavender varieties: Hemus, Sevtopolis, Yubileyna and Druzhiba. The experiment has been arranged according to the Randomized Complete-Block Design in four replications and a plot size of 10 m². The essential oil yields varied from 90 l ha⁻¹ by the variety Hemus to 131 l ha⁻¹ by the variety Sevtopolis. The major constituents of the essential oil were linalyl acetate (25.5-39.7%) and linalool (27.6-38.9%). The content of linalyl acetate was the highest by the variety Hemus, as only by this variety the ratio between linalyl acetate and linalool is 1:0.7, which defined the essential oil as high qualitative.

To Cite: Georgieva, R, Kirchev, H, Delibaltova, V, Matev, A, Chavdarov, P, Raycheva, T, 2022. Essential Oil Chemical Composition of Lavender Varieties Cultivated in an Untraditional Agro-Ecological Region. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 98-105. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.998772>

Geleneksel Olmayan Bir Agro-Ekolojik Bölgede Yetiştirilen Lavanta Çeşitlerinin Uçucu Yağ Kimyasal Bileşimi

Makale Bilgileri

Geliş: 21.09.2021

Kabul: 23.02.2022

Online yayımlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.998772

Anahtar Kelimeler

Lavanta,
Linalool,
Linalil asetat

Öz: Dobruca bölgesinde, (Hemus, Sevtopolis, Jubilee ve Druzhiba) dört çeşit lavantanın uçucu yağ verimini ve kimyasal bileşimini incelemek için bir saha deneyi kuruldu. Deneme, deneme parseli 10 m² büyüklüğünde ve dört tekerrürlü olarak kesirli parseller yöntemine göre düzenlenmiştir. Uçucu yağ verimleri Hemus için 90 l ha⁻¹ den Sevtopolis için 131 l ha⁻¹ e kadar değişir. Uçucu yağın ana bileşenleri (% 25.5-39.7) linalilasetat ve (% 27.6-38.9) linalool dur. Linalilasetat içeriği Hemus çeşidinde en yüksektir ve sadece bu çeşitte linalilasetat ile linalool arasındaki oran 1: 0.7' dir, bu da uçucu yağın yüksek kalitede olduğunu belirler.

1. Introduction

The *Lamiaceae* family is one of the most important herbal families with a cosmopolitan distribution, which includes a wide variety of plants of great industrial significance and multiple applications. The genus *Lavandula*, a member of the *Lamiaceae* family, with its 39 species, numerous hybrids, and about 400 officially registered varieties, are cultivated around the world and highly appreciated in many production directions because of the content and quality of the essential oil extracted mainly from the flowers. Only three *Lavandula* species are with commercial values *Lavandula angustifolia* Mill, *Lavandula latifolia* L, and *Lavandula x intermedia* a sterile hybrid developed by crossing *L. angustifolia* x *L. latifolia*. The essential oil chemical composition of the *Lavandula* species is the same, but with a different proportion of the compounds (Kıvrak, 2018). The quality of the essential oil is determined through the levels of linalool, linalyl acetate, and camphor in it. According to the ISO 3515:2002 standard, lavender essential oil contains linalool (25–38%), linalyl acetate (25–45%) and camphor (0.5–1.0%), lavandin essential oil contains linalool (24–35%), linalyl acetate (28–38%) and camphor (6–8%) according to the ISO 8902:2009 (Kıvrak, 2018). While lavender essential oil is used in the perfumery, cosmetics, and pharmaceuticals (Kara and Baydar, 2020), due to the high linalool and linalyl acetate content, the essential oil of lavandin is used in hygiene products, detergents, and insecticides, because of the higher amount of camphor. Lavender essential oil quality and price (85–150€/kg) is higher than lavandin essential oil (19 € kg⁻¹), although lavandin essential oil is produced in higher yields than lavender essential oil (120 kg ha⁻¹, 40 kg ha⁻¹, respectively) (Carrasco et al., 2016). Compounds such as linalyl acetate, linalool, 1,8- cineol, terpinen-4-ol, camphor have been reported to possess antimicrobial, antioxidant, and anticholinesterase activities (Gonçalves and Romano, 2013). Many studies in the last years evaluated the insecticidal activity of the essential oils against plant pests (Soares et al., 2019) and store product pests (Akami et al., 2019). Essential oil is stored in the oil glands of flowers and extracted from fresh or dried flowering tops by steam distillation or hydro-distillation. Various factors influence the content and composition of the lavender essential oil, like the genotype, climatic conditions, growing location, stage of development, storage conditions, distillation conditions. Many studies in the last years evaluated the insecticidal activity of the essential oils against plant pests (Isman and Seffrin, 2018) and store product pests (Akami et al., 2019). Many scientists researched the composition of the essential oil and the antioxidant activities of lavender (Bajalan et al., 2016; Kıvrak, 2018). Antioxidants neutralize free radicals, protect cell molecules, and preserve food quality for a longer time (Pourabdol et al., 2021).

Traditionally, lavender cultivation in Bulgaria is concentrated in the region of the Thracian valley. The total lavender areas in the last years have expanded, which is related to increasing cultivation outside the traditional areas, for example, the region of Dobruja - known as the granary of the country. The experience of the farmers indicates that the lavender grown in this area can realise its productive potential, but there is no comparative study on the essential oil chemical composition of the lavender varieties cultivated in this untraditional region. In this connection, the study aims to define which variety demonstrates the highest content of essential oil with the better proportion of the compounds.

2. Material and Methods

During the period from 2014 to 2017 in the region of Dobruja, village Kapinovo (43.759° N 27.977° E)– Northeastern Bulgaria, a field experiment was conducted to achieve the aims of the study. There were used four varieties of lavender - "Hemus,Yubileyna", "Druzhiba", and "Sevtopolis. The experiment was arranged according to the randomized complete block design in four replications and a plot size of 10 m². Fresh plant material was collected from five years old plants at a flowering stage when the concentration of essential oil reached its maximum. The plants were planted in rows at the spacing of 1.4 m x 0.35 m (Yankov et al., 2013) and grown under conventional practice. Flowers were cut and directly transported to the laboratory of the Department of Crop Science at the Agricultural university-Plovdiv, where distillation took place. The essential oil content was determined with the help of a Clevenger type distillation apparatus. Fifteen grams of lavender flowers were subjected to 240 mL of water for 105 min (hydrodistillation). The procedure was repeated three times for each sample. The obtained essential oil was stored in the refrigerator (4 °C) until the gas chromatograph analysis. The essential oil of lavender was analyzed on a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph with an

autosampler (carrier gas helium, 40 cm s⁻¹; 11.7 psi [60 °C]; 2.5 mL min⁻¹ constant flow rate; injection: split [60:1], 0.5 µL, inlet 220 °C; oven temperature program: 60 °C for 1 min, 10 °C min⁻¹ to 250 °C; column: HP-INNOWAX [cross-linked polyethylene glycol], 30 m x 0.32 mm x 0.5 µm; flame ionization detector temperature 275 °C). The gas chromatograph analysis detected and identified 12 different compounds in the lavender oil: Limonene (L), cis-β-Ocimene (cis), β-phellandrene (β), 1,8-cineole (cin), Linalool (L), Camphor (Cam), Linalyl acetate (LA), Terpinen-4-ol (T), Lavandulol acetate (LVA), Lavandulol (LV), α-Terpineol (α-T), trans-β-Ocimene (O).

The statistical processing of the data was carried out through ANOVA, as the differences between the variants were established by the multi-rank LSD test. The correlation analysis is performed with XLSTAT Version 2016.02.

2.1. Soil and climatic characteristics of the region

Gyurov and Artinova (2015) defined the soils in the region as slightly leached chernozem. The humus horizon is relatively strong, extending on average in the range of 60-80 cm. In the surface layers, the total nitrogen reserve varies from 156 to 166 mg 100 g⁻¹ soil by Kjeldahl, which characterizes the soil as moderately stocked with nitrogen. These soils belong to the group of poorly stocked with phosphorous and medium stocked with potassium ().

In terms of the climate conditions, the average monthly temperatures in the survey years did not differ significantly from those of the long-term period (Table 1). For the triennial period, the average daily temperature values exceed the perennial ones. According to the amount of precipitation, the values are close to or slightly higher than those of the long-term period.

Table 1. Meteorological data of the experimental field*

Year	Temperature (°C)											
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
2014/2015	23.2	17.5	11.2	5.0	2.0	1.4	2.0	5.0	10.0	16.4	19.4	23.0
2015/2016	22.8	19.5	10.9	5.6	3.1	-0.8	7.3	6.8	13.2	14.7	20.9	23.7
2016/2017	22.7	18.1	10.6	6.5	-0.6	-4.1	2.0	7.3	8.7	15.0	20.0	22.5
long-term average	20.6	16.2	11.5	6.1	1.8	-0.5	0.6	3.8	9.4	14.8	18.8	21.0
Precipitation (mm)												
2014/2015	34	31.4	58	33.2	101.4	33.2	79.5	67.7	46.3	12.9	31.3	30.2
2015/2016	42.0	21.0	78.3	33.2	2.0	86.3	40.7	52.7	20.8	117	55.7	2.8
2016/2017	12.4	35.8	72.0	43.0	12.5	48.4	27.4	49.0	38.4	29.0	87.7	66.5
long-term average	44.0	31.0	37.4	50.0	38.7	30.5	40.7	32.7	44.6	50.0	67.3	50.0

*Meteorology Station Kapinovo.

3. Results and discussion

The increased requirements in recent years to the quality, safety, and authenticity of essential oils can be met with an objective characteristic of their chemical composition. Table 2 presents the results of the gas chromatographic analysis of lavender oils from the tested varieties during the three experimental years. The main components in lavender essential oil are linalool and linalyl acetate. Linalool, linalyl acetate, camphor, and lavandulol were determined as the main constituents in the fresh stem flower essential oil of lavender reported from Blažeković et al. (2018). The same authors registered higher linalool content in all tested varieties of lavender. The most important ingredient when determining the quality of lavender oil is linalyl acetate. Its high content is an indicator of good quality.

This content is highest by the Hemus variety (from 35.98 to 42.00%) and meets the requirements of the standard for lavender oil (from 25 to 45%). By the variety Sevtopolis the content of linalyl acetate over the years is slightly below the values of the standard, while by the varieties Yubileyna and Druzhba in 2015 and 2017 experimental years, the values are like by the standard, and in 2016 - are about 17% lower. The results determined in the present study are in line with the observations of Zagorcheva et al. (2013) and Stanev et al. (2016). Of great importance for the quality of the essential oil is the ratio between linalyl acetate and linalool, which for the typical Bulgarian lavender oil should be in a ratio of

1: 0.7 (Stanev and Dzhurmanski, 2011). The content of linalool by the studied varieties between 27.66-38.92% and is within limits and slightly above the standard (25 - 38% according to ISO 3515: 2002). The ratio between the two components is observed only by the variety Hemus, while by Yubileyna, Druzhiba, and Sevtopolis, the amount of linalyl acetate is less than that of linalool. Many authors also stated that the main components of lavender essential oil were linalool and linalyl acetate and the contents varied between 37.0-54.0% and 21.0-36.0% (Carrasco et al., 2016), 28.10-36.80% and 29.09-46.88% (Kivrak, 2018), 23.51-27.39% and 26.60- 40.66% (Bogdan et al., 2020) respectively. Camen et al. (2016) stated that linalool (30.39%) and linalyl acetate (23.60%) exceeded half of the total content of essential oil components. According to Özel (2019) the dominating constituents of the essential oil of *Lavandula angustifolia* leaves were 1.8 cineol 35.24% and camphor 21.79%. Yildirim et al. (2019) reported that the percentage of the essential oil components was influenced by the time of harvest, as the highest essential oil (10.27%) was obtained from flowers harvested at 15:00 with linalool as the main compound. Moreover, the essential oil contents changed between 6.73-10.27% for flowers, 0.29-0.76% for peduncles, and 0.08-0.42% for leaves.

Other chemical ingredients that determine the quality of the essential oil are lavandulyl acetate, lavandulol, α -terpineol, 1,8-cineole, and limonene. In terms of the content of lavandulol, α -terpineol, 1,8-cineole, and limonene, all varieties meet the standards.

Table 2. Essential oil composition (%) in fresh stem flowers of lavender

Essential oil components	RT	Cultivar											
		Hemus			Druzhiba			Sevtopolis			Yubileyna		
		2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017
Limonene	19.7	0.25	0.34	0.43	0.27	0.30	0.39	0.25	0.49	0.66	0.36	0.31	0.43
cis- β -Ocimene	20.3	2.82	3.11	3.82	2.09	4.47	3.96	2.55	1.95	3.09	2.45	2.92	9.01
β -phellandrene	48.9	0.08	0.36	0.30	0.43	0.52	0.40	0.27	0.42	0.95	0.56	0.77	0.38
1,8-cineole	19.9	0.06	0.40	0.94	0.70	0.43	0.86	0.55	0.75	0.15	0.64	0.40	0.91
Linalool	24.7	27.6	37.1	36.7	34.2	28.0	31.1	36.2	35.1	38.9	31.5	29.6	36.9
Camphor	27.7	0.11	0.13	0.16	0.14	0.20	0.18	0.18	0.28	0.15	0.20	0.15	0.21
Linalyl acetate	35.5	39.7	42.0	35.9	32.1	24.9	33.0	29.3	25.5	28.0	30.0	26.5	33.0
Terpinen-4-ol	30.0	0.14	0.86	1.61	3.15	3.43	3.20	3.21	4.36	0.62	3.39	4.78	3.83
Lavandulol acetate	37.7	3.78	2.10	2.24	3.64	3.20	3.34	3.54	4.36	2.32	3.06	3.48	2.93
Lavandulol	49.2	0.55	0.39	0.48	1.54	1.42	1.39	1.42	1.36	0.35	1.14	1.14	1.16
α -Terpineol	30.9	1.53	1.70	1.60	1.14	1.16	1.22	1.30	1.77	1.88	1.29	1.40	1.27
trans- β -Ocimene	21.0	3.33	1.32	3.92	2.55	2.12	3.41	2.57	2.84	3.33	3.20	4.00	3.94

A serious problem in the last few years is the low content of lavandulyl acetate in Bulgarian lavender oil intended for export. In the region of Northeastern Bulgaria, all tested varieties of lavender meet the standard (2-5%). Undesirable ingredients in the essential oil are terpinene-4-ol and camphor. According Baydar (2009), the camphor content in a quality lavender oil must be between 0.5 and 1%. The modern breeding in Bulgaria was aimed at creating varieties with a very low content of terpin- 4-ol. That is why its content is very low by all Bulgarian varieties. The ISO 3515: 2002 requirement for camphor content is up to 1%. Depending on the year, by the tested varieties, the amount of camphor varies from 0.11 to 0.28%, which is significantly lower than the maximum permissible quantity according to ISO 3515: 2002.

The yield of essential oil (Y) varies depending on the climatic conditions of the year and the genotype (Table 3).

In the first year of the study, the values are higher by all tested varieties, which could be explained with the favourable wetter conditions - optimal temperature values and evenly distributed rainfall, as the values vary between 179 l ha⁻¹ by Sevtopolis to 120 l ha⁻¹ by the variety Hemus. More abundant rainfall in May and June in 2016 and 2017 led to a decrease in the average yields of essential oil by the tested varieties with respectively 31% and 47.5%.

Table 3. Yield of essential oil (l ha⁻¹)

Variety	2015	2016	2017	Average
Hemus	120c	80c	70c	90c
Yubileyna	150b	100b	80b	110b
Druzhba	170a	120a	85a	125a
Sevtopolis	179a	127a	90a	131a
LSD 5%	25.3	19.8	9.4	18.2

*Values with the same letters do not differ significantly.

Table 4. Two-way ANOVA analysis of variance

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Years	42867	2	21433	1148.24	0.00*	3.26
Varieties	12093	3	4031	215.95	0.00*	2.87
Interaction	2473	6	412	22.09	0.00*	2.36
Within	672	6	18			
Total	58106	47				

*Significance at 0.05 level.

In the second year the maximal yield of essential oil was observed by Sevtopolis (127 l ha⁻¹), and the minimal by the variety Hemus (80 l ha⁻¹). During the third year are registered the lowest values of the examined parameter by all varieties due to the highest precipitation of 66.5 mm and the lowest temperature of 22.5^o C during the harvest period. On average for the three years, the highest yield of essential oil was reported by the variety Sevtopolis - 131 l ha⁻¹, followed by Druzhba with 125 l ha⁻¹, Yubileyna with 110 l ha⁻¹, and at least the variety Hemus with a value of 90 l ha⁻¹. The mathematical processing of the data shows that the differences between the varieties Sevtopolis and Druzhba are statistically non-significant, not only by years but also for the three years of the experiment. Giannoulis et al. (2020) reported smaller essential oil yields ranging between 14 kg ha⁻¹ and 85 kg ha⁻¹, as the highest values were observed after treatment with bio-stimulator. As per the essential oil content, the values varied depending on the variety and the climate conditions of the year, and on average, for the period, the varieties could be arranged in the following descending order: Sevtopolis (2.1%), Druzhba (1.9%), Yubileyna (1.8%) and Hemus (1.6%) (Georgieva et al., 2021). The lowest values were reported in the third year of the investigation when the content of essential oil in the tested varieties had similar values of 1.3% by the varieties Druzhba and Hemus, 1.4% - by the variety Yubileyna, and 1.5% by the variety Sevtopolis. Many researchers reported that the essential oil content may vary due to soil and climatic factors or genetic characteristics of the variety (Hassiotis et al., 2014; Duda et al., 2015). Chrysargyris et al. (2016) stated that because of different fertilization treatments, the lavender essential oil ranged from 0.71 to 1.14%. In an experiment conducted in Ankara, Turkey the reported lavender essential oil content ranged between 0.7 and 2.6 % (Kirimer et al., 2017), while Rasheda et al. (2017) reported smaller contents (0.61- 0.81%).

The results from the performed two-way ANOVA analysis of variance (Table 4) confirm that both factors – “year” and “variety” proven to influence the yield of essential oil, as their interaction is also significant.

From the performed correlation analysis, it can be concluded that there exists a positive correlation between the yield of essential oil and the content of Lavandulol acetate (0.539); Limonene content and the content of β-phellandrene (0.597) and the content of α-Terpineol (0.688) (Table 5). The strongest relation is observed between the variables Terpinen-4-ol and Lavandulol (0.775). A strong negative correlation is determined between the content of Linalyl acetate and the content of Terpinen-4-ol (-0.848), as well as with the content of Lavandulol (-0.794). Analogical to the content of Linalyl acetate, the values of the variable yield of essential oil tend to decrease when the values of the Limonene, cis-β-Ocimene, and trans-β-Ocimene increase because of the determined negative correlation. A negative correlation is also determined between the content of camphor and the content of Linalyl acetate (-0.614).

Table 5. Correlation matrix (Pearson)

Variables	Y	L	cis	β	cin	L	Cam	LA	T	LVA	LV	α -T	O
Y													
L	0.466												
cis	0.501	0.043											
β	0.152	0.597	0.076										
cin	0.096	0.017	0.363	0.222									
L	0.196	0.565	0.158	0.160	0.277								
Cam	0.121	0.282	0.167	0.073	0.531	0.114							
LA	0.330	0.249	0.094	0.602	0.068	0.129	0.614						
T	0.223	0.117	0.128	0.509	0.398	0.037	0.666	0.848					
LVA	0.593	0.355	0.290	0.251	0.025	0.493	0.405	0.411	0.416				
LV	0.531	0.047	0.027	0.375	0.209	0.084	0.494	0.794	0.775	0.520			
α -T	0.414	0.688	0.264	0.213	0.352	0.492	0.027	0.165	0.333	0.292	0.478		
O	0.619	0.266	0.397	0.125	0.213	0.122	0.143	0.208	0.029	0.257	0.383	0.202	

*Values in **bold** are different from 0 with a significance level $\alpha=0.05$.

*Abbreviations are given in the material and methods.

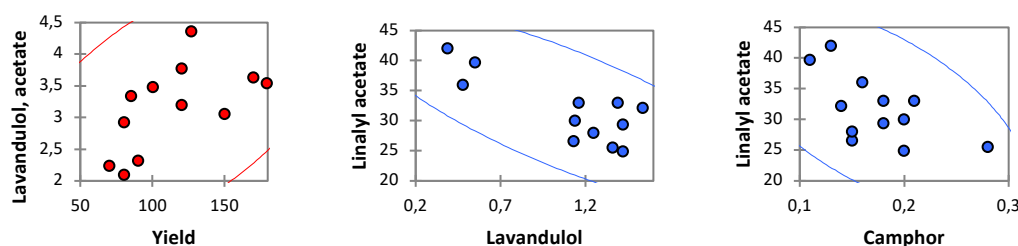


Figure 1. Correlation scatterplots between the variables.

With larger values of the yield of essential oil, the values of the variable Lavandulol acetate also had a tendency to increase. The scatterplots illustrate the determined relations (Figure 1) and define the negative relations between the Linalyl acetate and the variables Lavandulol and Camphor.

Conclusion

For the untypical lavender growing region of Northeastern Bulgarian, the variety Sevtopolis distinguished with the highest yield of essential oil during the studied period, but the chemical composition of the essential oil was better by the variety Hemus, which determines the last one as more appropriate for oil production. The content of the linalyl acetate by the variety Hemus is the highest and meets the requirements of the international standard, as only by this variety the ratio between linalyl acetate and linalool is 1: 0.7, and the essential oil could be defined as high qualitative. The performed analysis confirmed that the yield of essential oil is dependent, not only on the weather conditions during the harvest but also on the genotype.

References

- Akami, M., Njintang, N.Y., Gbaye, O., Niu, C.Y., Nukenine, E.N. (2019). Comparative expression of two detoxification genes by *Callosobruchus maculatus* in response to dichlorvos and *Lippia adoensis* essential oil treatments. *J. Pest Sci.*, 92: 665–676.
- Bajalan, I., Mohammadi, M., Alaei, M., Pirbalouti, A.G. (2016). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of extracts from different populations of lavandin. *Ind. Crops Prod.*, 87, 255–260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.059> ,(Accessed September, 2021)
- Baydar, H. (2009). Lavender. Medicinal and Aromatic Plant Science and Technology (3th press). *Suleyman Demirel University Press* No: 51: 274-278, Isparta.
- Blažeković, B., Yang, W., Wang, Y., Li, C., Kindl, M., Pepeljnjak, S., Vladimir-Knežević, S. (2018). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Lavandula × intermedia* ‘Budrovka’ and *L. angustifolia* cultivated in Croatia. *Industrial Crops and Products*.
- Bogdan, M., Bungau, S., Tit, D.M., Copolovici, L., Behl, T., Otrisal, P., Aleya, L., Cioca, G., Berescu, D., Uivarosan, D., Copolovici, D.M. (2020). Variations in the Chemical Composition of the Essential Oil of *Lavandula angustifolia* Mill., Moldoveanca 4 Romanian Variety , *Revista de Chimie*, 71(7), pp. 307-315. <https://doi.org/10.37358/RC.20.7.8249>
- Camen D, Hadaruga N, Luca R, Dobrei A, Nistor E, Posta D, Dobrei A, Velicevici G, Petcov A, Sala F. (2016). Research concerning the influence of Fertilization on some Physiological Process and Biochemical composition of Lavender (*Lavandula angustifolia* L.). *Agric. and Agric. Sci. Procedia*, 10, 198-205.
- Carrasco, A., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., Tudela, J. (2016). Lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loiseleur) essential oil from Spain: determination of aromatic profile by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Nat. Prod. Res.*, 30, 1123–1130.
- Chrysargyris, A., Panayiotou, C., Tzortzakis, N. (2016). Nitrogen and phosphorus levels affected plant growth, essential oil composition and antioxidant status of lavender plant (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Ind. Crop. Prod.*, 83, 577–586.
- Dudaa, S.C., Marghitas, L.A., Dezmireana, D., Duda, M., Margaoan, R., Bobis, O. (2015). Changes in major bioactive compounds with antioxidant activity of *Agastache foeniculum*, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis* and *Nepeta cataria*: effect of harvest time and plant species. *Ind. Crop. Prod.*, 77, 499–507.
- Georgieva, R., Kirchev, H., Delibaltova, V., Chavdarov, P., Uhr, Z. (2021). Investigation of Some Agricultural Performances of Lavender Varieties. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31 (1), 170-178 . doi: [10.29133/yyutbd.770697](https://doi.org/10.29133/yyutbd.770697)
- Giannoulis K., Evangelopoulos V., Gougoulis N., Wogiatzi E. (2020). Could bio-stimulators affect flower, essential oil yield, and its composition in organic lavender (*Lavandula angustifolia*) cultivation?. *Ind. Crop. Prod.*, 154, 112611.
- Gonçalves, S. & Romano, A. (2013). In vitro culture of lavenders (*Lavandula* spp.) and the production of secondary metabolites. *Biotechnol. Adv.*, 31, 166–174.
- Gyurov, G., & Artinova, N. (2015). Book for Soil Knowledge for Students from the Agronomic Specialties of Universities. Second revised edition. Intellectper-94, Plovdiv
- Hassiotis, C.N., Ntana, F., Lazari, D.M., Poulis, S., Vlachonasios, K.E. (2014). Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. *Ind. Crop. Prod.*, 62, 359–366.
- Isman, M.B. & Seffrin, R. (2018). Essential oils as Green pesticides for plant protection in horticulture. In: *Sustainable Horticulture*, 2: 217–260. Apple Academic Press, Waretown, NJ.
- Kara, N. & Baydar, H. (2020). The floral and scent characteristics of lavandin from the micropropagation and cutting propagation. *Turkish Journal of Field Crops*, 25 (2), 114-121.
- Kirimer, N., Mokhtarzadeh, S., Demirci, B., Goger, F., Khawar, K.M., Demirci, F. (2017). Phytochemical profiling of volatile components of *Lavandula angustifolia* Miller propagated under in vitro conditions. *Ind. Crop. Prod.*, 96, 120–125.
- Kıvrak, Ş. (2018). Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. *Industrial Crops and Products*, 117, 88-96.

- Özel, A. (2019). Determining leaf yield, some plant characters and leaf essential oil components of different cultivars of lavender and lavandin (*Lavandula* spp.) on the Harran Plain ecological conditions. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 2019 (17), 14087–14094.
- Pourabdol, R., Pourakbar, L., Rahimi, A., Tukmechi, A. (2021). Effects of cuts and different phenological stages on antibacterial and antioxidant activities and chemical attributes of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31 (3), 663-677, doi: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.839422>
- Rasheda, M.M.A., Tonga, Q., Nagi, A., Li, J.P., Khane, N.U., Chena, L., Rotailf, A., Bakry, A.M. (2017). Isolation of essential oil from *Lavandula angustifolia* by using ultrasonic-microwave assisted method preceded by enzymolysis treatment, and assessment of its biological activities. *Ind. Crop. Prod.*, 100, 236–245.
- Soares, M.A., Campos, M.R., Passos, L.C., Carvalho, G.A., Haro, M.M., Lavoit, A.V., Biondi, A., Zappal' a, L., Desneux, N. (2019). Botanical insecticide and natural enemies: a potential combination for pest management against *Tuta absoluta*. *J. Pest Sci.*, 92, 1433–1443.
- Stanev, S. & Dzhurmanski, A. (2011). Guidelines for selection by lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) *Science & Technologies*, 1(6), 190-195.
- Stanev, S., Zagorcheva, T., Atanassiov, I. (2016). Lavender cultivation in Bulgaria-21st century developments, breeding challenges and oppurtunities. *Bulg J AgricSci*, 22: 584-590.
- Yankov, B., Terziev, J., Yancheva, Hr., Ivanova, R., Yanchev, Iv., Georgieva, T., Kolev, T., Tahsin, N., Delibaltova, V., Kirchev, H. (2013). *Crop production*. Academic Publishing House of the University of Plovdiv - 333.
- Yıldırım MU, Sarihan EO, Kul H, Khawar KM. (2019). Diurnal and nocturnal variability of essential oil content and components of *Lavandula angustifolia* Mill. (Lavender). *MKU. Tar. Bil. Derg.* 24(3), 268-278
- Zagorcheva, T., Stanev, S., Rusanov, K., Atanassov, I. (2013). Comparative GC/MS analysis of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) inflorescence and essential oil volatiles. *Agricultural Science and Technology*, 5, 459 – 462.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

Research Article

e-ISSN: 1308-7584

Effects of Salinity on Yield, Yield Components and Water Productivity of Black Carrot (*Daucus Carota* L.) Under Water Stress Condition

Mehmet ALTUN^{*1}, Hakan ARSLAN²

¹Agricultural Structures and Irrigation Department, Faculty of Agriculture, Atatürk University, Erzurum, Turkey

²Agricultural Structures and Irrigation Department, Faculty of Agriculture, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-7807-9810>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9677-6035>

*Corresponding author e-mail: mehmetaltun@atauni.edu.tr

Article Info

Received: 10.11.2021

Accepted: 24.02.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1021957

Keywords

Irrigation water salinity

Black carrot

Soil salinity

Irrigation interval

Drought

Abstract: Salinity and drought are some of the main problems affecting global crop yields. In this study, interaction effects of irrigation interval and salinity on yield, soil salinity, other parameters of black carrot were evaluated in a covered rain shelter. The treatments consist of three different irrigation intervals (4 days (I₁), 6 days (I₂), and 8 days (I₃) with 6 different irrigation water salinity levels (0.38 (S₁), 1.5 (S₂), 3.0 (S₃), 5.0 (S₄), 7.0 (S₅) and 10.0 (S₆) dS m⁻¹. The results indicated that the effect of interaction between irrigation interval and salinity was significant on yield, evapotranspiration, chlorophyll content, and soluble solid content (SSC). Yield and evapotranspiration decreased significantly with an increase in salinity and irrigation intervals. The highest yield was observed in I₁S₁, and the yield response (Ky) in the black carrot was 1.39. The irrigation water salinity up to 1.5 dS m⁻¹ was nonsignificant on yield. However, the increase in soil salinity by 1 dS m⁻¹ caused a decrease of 3.83%, 2.93%, and 3.03% in the yields of I₁, I₂, and I₃, respectively. Moreover, increasing the salinity of irrigation water reduced the chlorophyll content and carrot juice pH value. The result of the study indicated that black carrot is sensitive to salt and water deficit, and the maximum irrigation interval using saline water should not be more than 6 days. Therefore, it can be concluded that in regions where salinity is high, more frequent irrigation minimizes losses that may occur in yield.

To Cite: Altun M, Arslan H, 2021 Effects of Salinity on Yield, Yield Components and Water Productivity of Black Carrot (*Daucus Carota* L.) Under Water Stress Condition. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 106-118.
DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1021957>

Su Stres Koşulları Altında Tuzluluğun Siyah Havuç Bitkisinin (*Daucus Carota* L.) Verim, Verim Bileşenleri ve Bitki Su Tüketimi Üzerine Etkileri

Makale Bilgileri

Geliş: 10.11.2021

Kabul: 24.02.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1021957

Öz: Tuzluluk ve kuraklık, küresel anlamda bitkisel üretimi etkileyen en önemli önemli problemlerden bazılarıdır. Bu çalışma, sulama aralığı ve sulama suyu tuzluluğun siyah havuçun verim ve büyüme parametreleri ile toprak tuzluluğu üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yağış örtüsü ile kapalı bir alanda yapılmıştır. Çalışma, 6 farklı sulama suyu tuzluluk seviyesi (0.38 (S₁), 1.5 (S₂), 3.0 (S₃), 5.0 (S₄), 7.0 (S₅) ve 10.0 (S₆) dS/m ve 3 farklı sulama aralığında (4 gün

Anahtar Kelimeler

Sulama tuzluluğu,
Siyah havuç,
Toprak tuzluluğu,
Sulama aralığı,
Kuraklık

(I₁), 6 gün (I₂) ve 8 gün (I₃) yürütülmüştür. Çalışma sonucunda sulama aralığı ve sulama suyu tuzluluğunun interaksiyon etkisinin verim, bitki su tüketimi, klorofil içeriği ve suda çözünebilir katı madde miktarı (SÇKM) üzerine önemli derecede etki ettiği belirlenmiştir. Tuzluluk ve sulama aralıklarının artmasıyla birlikte siyah havucun verimi ve bitki su tüketim değerleri önemli derecede azalış göstermiştir. En yüksek verim I₁ x S₁ konusundan elde edilmiş ve verim tepki faktörü (K_y) 1.39 olarak belirlenmiştir. Sulama suyu tuzluluğunun 1.5 dS/m' ye kadar olması siyah havucun veriminde herhangi bir azalmaya neden olmadığı belirlenmiş bununla birlikte toprak tuzluluğundaki 1 dS/m lik artış, I₁, I₂ ve I₃ sulama aralıklarında sırasıyla % 3.83, % 2.93 ve % 3.03 oranında azalmaya neden olmuştur. Sulama suyu tuzluluğundaki artış klorofil içeriğini ve havuç suyunun pH değerini düşürmüştür. Araştırma sonucunda, siyah havucun tuz ve su kısıtına. Karşı hassas olduğu ve tuzlu su kullanılması durumunda siyah havuç için sulama aralığının en fazla 6 gün olması gerektiği tespit edilmiştir. Sulama suyu tuzluluğunun yüksek olduğu bölgelerde daha sık sulama yapılması ile verimde oluşabilecek kayıpların en aza indirileceği belirlenmiştir.

1. Introduction

Salinity and drought are two of the most important abiotic stresses, which have affected almost every aspect of plant growth and development, including seed germination, vegetative growth, and reproductive development (Arslan et al., 2018; Sahin et al., 2018; Desire and Arslan, 2021; Ors et al., 2021). Nowadays, the world is experiencing a gradual decrease in freshwater resources (Yerli et al., 2019) as a result of increased salt in irrigation water sources such as rivers, streams, and underground aquifers. Irrigating crops with saline waters causes a reduction in yield and an increase in soil salinity. It is estimated that about 20% of the agricultural land in the world is affected by salt (Munns, 2002). Salt stress prevents the growth of plants by causing osmotic and ionic stress. Salinity becomes a serious concern when soluble salts occur in excessive concentrations in the soil or water. Salinity is a major yield-reducing factor in arid and semi-arid areas (Puvanitha and Mahendran, 2017). With the increase of salt amount in the root rhizosphere, osmotic stress occurs, and this causes a decrease in the amount of usable water.

Azder et al. (2020) examined the effects of different water-deficit treatments on evapotranspiration, yield, and growth parameters of Cacia pepper in Tekirdağ, and they stated that the yield values increased as the amount of irrigation water increased. To achieve higher yields from crops, the relationship between the water, salinity, and crop yield should be well known. In several studies, the effects of the water deficit on yield and photosynthetic characteristics of plants have been studied, and variations between plants have been reported (Sahin et al., 2016; Bell et al., 2018; Coban et al., 2018; Ozturk and Korkut, 2018; Ekinci and Basbag, 2019; Cakmakci et al., 2021). The irrigation interval should be a maximum of 14 days for pumpkin (Yavuz et al., 2015) and 7 days for corn (Abd El-Halim and Razek, 2014) to get the highest yield.

Plants have varying tolerance to salinity. Therefore, it is important to know the relationship between salt and yield of plants and salinity threshold values for salinity management. According to Kiremit and Arslan (2016), the percentage of leek yield decrease under increasing soil salinity (EC_e) as 0% at 1.1 dS m⁻¹, 11% at 2.84 dS m⁻¹, 19% at 4.65 dS m⁻¹, 25% at 5.6 dS m⁻¹, 38% at 6.41 dS m⁻¹ and 43% at 8.27 dS m⁻¹. The salinity threshold values for stevia and carrot are 2.0 dS m⁻¹ and 2.5 dS m⁻¹, respectively (Unlukara et al., 2011; Reis et al., 2015). They suggested that these plants should not be irrigated with higher salinity water. Rodrigues et al. (2020) investigated the influence of different electrical conductivities (1.0, 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 dS m⁻¹) of irrigation water salinity on maize crops. They found an increase in salinity reduced unhusked and husked ear weights, cob weight, 1000-grain weight, and yield. However, ear length and diameter were not affected by the increased salinity. Dastranj and Sepaskhah (2019) also showed that water deficit and salinity significantly affected saffron yield and growth parameters.

The combined effects of salinity and water constraint on plant growth and development are more than the effects of each stress separately. There is little literature on the interaction effect of irrigation intervals and irrigation water salinity on yield and yield components. Sepaskhah and Yarami (2009) investigated the effects of 4 different irrigation intervals and 4 different irrigation water salinity on the

yield of the saffron crop. They have concluded that saffron is a salt-sensitive plant, and irrigation interval has to be a maximum of 2 days to avoid yield reduction. Abedinpour and Rohami (2017) suggested that soybean plants should be irrigated at 7 days intervals with 1 dS m⁻¹ EC of water to get the highest yield. Yuan et al. (2019) examined the interaction effects of irrigation regimes and salinities on corn yield and yield parameters. They suggested that irrigation with 370 mm water with 3 g L⁻¹ salinity could be applied to attain maximum yield.

The effects of irrigation and salinity on yield and yield parameters of black carrot have not been studied in the literature. This study was conducted to evaluate the main and interactive effects of irrigation intervals and salinity, as well as the yield and yield parameters, evapotranspiration, and soil salinity of black carrot (*Daucus Carota* L.).

2. Material and Methods

2.1. Study site

This study was conducted between May and August 2017 in a covered rain shelter at Ondokuz Mayıs University Research Field at Samsun, Turkey. The indoor temperature and relative humidity ranged from 12.5 °C to 27.2 °C and 58.8% to 85% throughout the growing period, respectively.

2.2. Experimental design and treatments

The physical properties of the soil were analyzed and classified as a sandy loam (SL). The soil analysis results are shown in (Table 1).

Table 1. The physical and chemical properties of the soil

Parameter	Values
ECe (dS m ⁻¹)	0.63
pH	7.80
Field capacity (%)	33.24
Wilting point (%)	14.56
Sand (%)	52.3
Silt (%)	38.3
Clay (%)	9.4
Soil texture	Sandy-loam
Organic matter (%)	1.24
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	40
K ₂ O (kg ha ⁻¹)	500

The soil was sieved through 2 mm and after each pot was filled with 17.5 kg air-dried soil. Sand-gravel materials of 2.5 kg were placed at the bottom of each pot to provide drainage. The seeds were placed in Petri dishes and later placed in the incubator for germination before planting. The seeds were germinated at 25°C and 75% humidity in the incubator for 3 days. After germination, five germinated seeds were planted in each pot. The pots were 28 cm in height, 29 cm in diameter, and 18.5 L.

The six irrigation water salinity treatments consisted of 0.38 dS m⁻¹ (S₁), 1.5 dS m⁻¹ (S₂), 3 dS m⁻¹ (S₃), 5 dS m⁻¹ (S₄), 7 dS m⁻¹ (S₅), 10 dS m⁻¹ (S₆) with three intervals: 4 days (I₁), 6 days (I₂) and 8 days (I₃). In the study, 18 treatments were used with combinations of 3 replicates given a total of 54 pots in a randomized complete block design. The irrigation water salinity was prepared for each treatment by mixing CaCl₂, MgSO₄, and NaCl salts. The fertilizer rates were 90 kg ha⁻¹ N and 90 kg ha⁻¹ P₂O₅ (Diammonium phosphate), the full dose of P fertilizer and a half dose of N fertilizer were given before planting, and the other half of N fertilizer was given 20 days after salt application (Unlukara et al., 2011).

Before starting the experiment, the pots were saturated with tap water and weighted to determine the field capacity (WFC) of each pot. Irrigation applications were started 15 days after sowing and All pots were irrigated with saline water at intervals of 4, 6, and 8 days. The following equation was used to calculate the amount of irrigation water (IW) applied to the pots in each irrigation.

$$IW = \frac{\frac{W_{FC}-W}{P_w}}{1-LF} \quad (\text{Eq. 1})$$

Where; W_{FC} , Weight of pots in field capacity (kg), W = weight of the pots before irrigation (kg), P_w = Water density (1 kg l^{-1}) LF = Leaching fraction (leaching fraction was used as 15% (Ayers and Wescot, 1989).

The evapotranspiration was determined the following.

$$ET = IW - D \pm \Delta S \quad (\text{Eq. 2})$$

Where; ET : Evapotranspiration, IW = Irrigation amount (L), D = Amount of drainage water (L), ΔS = Difference in amount of soil water between irrigation

Water use efficiency (WUE) were determined using Eq. (3) (Howell et al. 1990)

$$WUE = \frac{Y_a}{ET} \quad (\text{Eq. 3})$$

Where; WUE : Water use efficiency ($\text{g pot}^{-1}\text{mm}^{-1}$), Y_a = Black carrot fresh weight (g pot^{-1}), ET = Evapotranspiration (mm)

The following equation was used to determine the yield response factor (K_y).

$$\left(1 - \frac{Y_a}{Y_m}\right) = K_y \times \left(1 - \frac{ET_a}{ET_m}\right) \quad (\text{Eq. 4})$$

Where; Y_m and ET_m : maximum yield and maximum evapotranspiration from the control treatment, respectively; Y_a and ET_a , Black carrot fresh weight (g pot^{-1}), and actual evapotranspiration (mm) taken as from each salinity treatment (Doorenbos and Kassam, 1986).

2.3. Plant and soil analysis

The yield, fruit juice EC, and fruit juice pH values were determined in each lysimeter. Chlorophyll content of the youngest and fully expanded leaves was measured with a portable chlorophyll meter (Minolta SPAD-502), and the SSC was measured using a reflectometer (ATC-I, Atago, Japonya).

At the end of the experiment, soil samples were collected from the midpoint of each pot to determine the electrical conductivity and pH values of the soils. Soil salinity and pH values were determined by using Eutech pc510 EC / pH meter at soil saturation paste.

2.4. Statistical analysis

The data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with SPSS 21.0 software to determine the interaction effect between irrigation interval and salinity on the black carrot. The difference between the means was compared with Duncan's multiple comparison test at a level $p < 0.05$. The 3-D graphs were drawn with design expert 11.0 software.

3. Results and Discussion

3.1. Yield and Yield components

The irrigation intervals and irrigation water salinity had significant effects on yield ($p < 0.01$) while irrigation intervals \times irrigation water salinity interactions were statistically significant on yield ($p < 0.05$) (Table 2).

In all irrigation intervals, increasing salinity significantly decreased the yield of carrots, and the yield was not significantly different between S_1 and S_2 . S_3 , S_4 , S_5 , and S_6 decreased in yield by 20%, 25%, 29%, and 41%, respectively, compared to S_1 (Table 3). Salt stress, by affecting cell division and elongation, causes a decrease in the number of cells and cell division rate in the root and stem in plants, which causes a shortening in the height and weight of the plants. Salinity value up to 1.5 dS m^{-1} did not cause a significant reduction in the yield. The black carrot plant was determined to be sensitive to

salinity. Kim et al. (2016) reported that the threshold value for the salinity of lettuce and Chinese cabbage is 0.9 dS m^{-1} and 1.5 dS m^{-1} , respectively. Increased salinity caused a significant decrease in tomato and oregano yields (Ahmed et al., 2017; Hancioglu et al., 2019).

The yields of I_2 and I_3 decreased by 3% and 19%, respectively, compared to I_1 . However, no statistically significant difference in yield was observed between I_1 and I_2 treatments. Drought negatively affects the yield of the plant as it causes loss of turgor, decrease in energy balance, and decrease in enzymatic activity, cell division, elongation, and differentiation. Ramezanifar et al. (2021) conducted a study on the interactive effects of salinity and water scarcity on spinach. The results of their study indicated that salinity and water scarcity were significant on plant growth and yield. Similarly, Hazrati et al. (2017) and Yurtseven et al. (2012) found that deficit irrigation decreased crop yields.

In each irrigation interval, the highest yields were obtained from treatment irrigated with S_1 (Table 3). However, the yield of black carrots under fresh irrigation was preserved by order $I_1 \times S_1 > I_2 \times S_1 > I_3 \times S_1$. In I_1 and I_2 , except for $I_1 \times S_1$, there was no statistically significant difference in yields of all the same irrigation water salinity. Irrigation using saline water should be a maximum of 6 days of irrigation interval to avoid decreased yield.

Table 2. Analysis of variance of irrigation intervals (I), salinity (S), and their interactions (I*S) on black carrot yield, yield components, and evapotranspiration

Parameter	S	I	I*W
Yield (gr pot ⁻¹)	56.96**	38.36**	2.46*
Chlorophyll content	104.92**	895.47**	215.99**
SSC	4.29**	9.88**	2.44*
Water Juice EC	20.35**	6.94**	0.83 ns
Water Juice pH	11.19**	8.23***	1.22 ns
ET (mm)	38.34**	182.00**	6.68**
WUE (gr mm ⁻¹)	8.23**	15.49**	1.33 ns
EC _e	274.26**	5.79**	1.59 ns
pH _e	84.05**	16.97**	0.90 ns

ns = not significant; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

The black carrot yield had a curvilinear relationship with irrigation water salinity and irrigation interval (Fig. 1). Decreasing irrigation intervals from 8 to 4 days had curvilinearly increased crop yield at the lowest salinity. Under the highest salinity conditions, crop yield was increased slightly with decreasing irrigation intervals from 8 to 4 days. The highest carrot yield was determined with frequent irrigation intervals and low salinity, whereas the lowest yield was recorded in crops irrigated with 10 dS m^{-1} irrigation water and under high irrigation intervals. Sepaskhah and Yarami (2009) recommended that irrigation intervals need to be more frequent when using saline water to avoid water stress for Saffran.

SPAD is proportional to the chlorophyll of the leaf. The main and interaction effects of the irrigation interval and salinity on chlorophyll in black carrots were statistically significant (Table 2). Increased irrigation interval and salinity resulted in a significant decrease in chlorophyll content (Table 3). The highest value was obtained in $I_1 \times S_1$ (40.90), and the lowest value was obtained in $I_3 \times S_6$ (14.67). In salty conditions, the decrease in the amount of chlorophyll in plants can be explained by the increase in the activity of the chlorophyllase enzyme, which breaks down chlorophyll (Rao and Rao, 1981). It has been determined in studies that water constraint and/or salinity stress in a negative way affect the chlorophyll content in plants (Cakmakci et al., 2017; Shah et al., 2017; Guzel et al., 2018; Kiremit and Arslan, 2018; Rostami et al., 2018).

The two-way ANOVA showed that irrigation interval, irrigation water salinity, and interaction of irrigation salinity and irrigation interval had a significant effect on soluble solids content (SSC) (Table 2). SSC varied between 5.64 % and 13.34 % in all treatments and increased in increasing salinity levels but reduced as the irrigation interval increased (Table 3). Similarly to our finding, a high salinity caused an increase in the SSC content of the tomato (Ruiz et al., 2015; El-Mogy et al., 2018)

Table 3. The interaction effect of irrigation interval (I) and salinity (S) on black carrot yield, chlorophyll content (CCI), soluble solid content (SSC), water juice salinity, and water juice pH

Irrigation Intervals Effect (I)	Yield	CCI	SSC	Water Juice EC (dS m ⁻¹)	Water Juice pH	
I ₁ (4 days)	250.7 ± 13a	38.1 ± 0.4a	10.2 ± 0.4a	10.9 ± 0.5a	5.7 ± 0b	
I ₂ (6 days)	242 ± 13a	34.5 ± 0.9b	8.3 ± 0.6b	9.5 ± 0.7b	5.8 ± 0a	
I ₃ (8 days)	202.5 ± 8.9b	23.4 ± 0.7c	9.3 ± 0.4ab	9.8 ± 0.5b	5.8 ± 0a	
Salinity effect (S)						
S ₁ (0.38 dS m ⁻¹)	289.7 ± 14.3a	37.3 ± 1.3a	7.5 ± 0.7b	7.3 ± 0.4c	5.9 ± 0a	
S ₂ (1.50 dS m ⁻¹)	273.7 ± 9.6a	34.4 ± 1.7b	8.6 ± 0.6ab	9 ± 0.4d	5.8 ± 0bc	
S ₃ (3.0 dS m ⁻¹)	232.3 ± 11.1b	33 ± 2c	10.1 ± 0.7a	9.7 ± 0.4cd	5.8 ± 0bc	
S ₄ (5.0 dS m ⁻¹)	218.2 ± 9.9bc	31 ± 2.6d	10 ± 0.6a	10.2 ± 0.4bc	5.7 ± 0c	
S ₅ (7.0 dS m ⁻¹)	206 ± 8.7c	29.4 ± 2.7e	9 ± 0.7ab	11.1 ± 0.5bc	5.7 ± 0c	
S ₆ (10.0 dS m ⁻¹)	170.4 ± 5.5d	26.8 ± 3.2f	10.3 ± 0.7a	13.3 ± 0.5a	5.7 ± 0c	
Irrigation Intervals x Salinity Interaction						
I ₁	S ₁	336.3±11.8a	40.9 ± 1a	10.8 ± 0a-d	8.5 ± 0.70	5.8 ± 00
	S ₂	295.7 ± 3.9b	38.5 ± 0.2b	11 ± 0.7a-d	9.6 ± 0.70	5.7 ± 00
	S ₃	251.2 ± 5.2c	38.2 ± 0.5b-d	11.6 ± 0.4abc	9.9 ± 0.70	5.7 ± 00
	S ₄	232.3 ± 2.8cd	37.5 ± 0.1b-e	12.1 ± 1ab	11.1 ± 0.80	5.7 ± 00
	S ₅	214.1 ± 6d	36.7 ± 0.1c-e	9.4 ± 2.3bcd	12.5 ± 0.60	5.6 ± 0.10
	S ₆	174.5 ± 6fg	36.8 ± 0.1b-e	10.7 ± 2.3a-d	14.1 ± 0.60	5.7 ± 0.10
I ₂	S ₁	287 ± 11.7b	38.5 ± 0b	6 ± 0.5e	6.6 ± 0.60	6.1 ± 00
	S ₂	286.7 ± 2.2b	36.4 ± 0.3d-f	8.7 ± 1cde	8.2 ± 0.20	5.8 ± 00
	S ₃	253.3 ± 11.1cd	35.8 ± 0.3ef	10.1 ± 1.4bcd	9.9 ± 0.40	5.8 ± 00
	S ₄	232.3 ± 13.5cd	37.5 ± 0.8b-e	11 ± 1.2a-d	11.1 ± 0.60	5.7 ± 00
	S ₅	219.3 ± 22.1de	32.5 ± 0.1g	9.8 ± 0.1bcd	9.4 ± 0.50	5.7 ± 0.10
	S ₆	174.8 ± 14fg	28.9 ± 0.6h	7.8 ± 1de	13.6 ± 0.50	5.7 ± 00
I ₃	S ₁	245.9 ± 11.4c	32.5 ± 0.7g	8.2 ± 0.9de	6.9 ± 0.30	6 ± 00
	S ₂	238.6 ± 11.6cd	28.3 ± 2.2h	8.5 ± 1.3de	9.1 ± 10	5.9 ± 0.10
	S ₃	192.3 ± 12ef	25.1 ± 0.8i	11 ± 1.8a-d	9.3 ± 1.20	5.8 ± 0.10
	S ₄	191.6 ± 21.3ef	20.9 ± 0.5j	9.2 ± 0.6bcd	10.3 ± 0.50	5.8 ± 00
	S ₅	184.5 ± 4.8fg	19.1 ± 0.5j	10.1 ± 0.9bcd	11.4 ± 0.40	5.7 ± 00
	S ₆	162 ± 10.6g	14.7 ± 0.4k	13.4 ± 0.4a	12.1 ± 0.90	5.7 ± 0.10
LSD _{0.05} I	12.01**	0.75**	1.23**	0.87**	0.057**	
LSD _{0.05} S	16.62**	1.04**	1.70**	1.20**	0.079**	
LSD _{0.05} I x S	28.80*	1.79**	2.94*	2.08 ^{ns}	0.14 ^{ns}	

I₁: 4 day irrigation intervals; I₂: 6 day irrigation intervals; I₃: 8 day irrigation intervals; S₁: 0.38 dS m⁻¹; S₂: 1.50 dS m⁻¹; S₃: 3.0 dS m⁻¹; S₄: 5.0 dS m⁻¹; S₅: 7.0 dS m⁻¹; S₆: 10.0 dS m⁻¹. The values marked with different letters show statistically significant at at p < 0.05. ns = not significant; *p < 0.05; ** p < 0.01.

The electrical conductivity (EC) values of fruit juice varied between 6.56 and 14.09 dS m⁻¹ (Table 3). Irrigation interval and salinity affected a significant effect on juice salinity, but their interaction was not statistically significant. The treatment of I₁×S₆ acquired the highest value, whereas I₃×S₁ obtained the lowest value. Kiran et al. (2018) determined that the increase in irrigation water salinity caused an increase in the salinity of the eggplant plant juice. The main effect of irrigation interval and salinity on water juice pH was significant and decreased with increasing salinity. The effects of interaction between irrigation interval and salinity were also insignificant. Furthermore, the differences in water juice pH between I₁ and I₂ were significant, while I₃, I₄, I₅, and I₆ were not significant. Korkmaz et al. (2016) found that the pH value of tomato juice decreased significantly with increasing salinity.

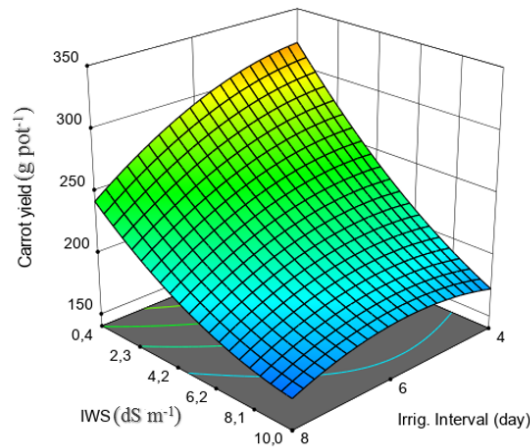


Figure 1. The interactive effects of irrigation interval (I) and salinity (S) and on black carrot yield.

$$\text{Yield} = 226.268 - [21,5755x(S)] - [56,9777x(I)] + [17,1541x(S)x(I)] - [15,4204x(S)^2] + 14,962x(I)^2$$

$$\text{SE} = [5.72] [3.38] *** [3.94] *** [4.82] *** [5.71] ** [6.70] * \quad r^2 = 0.84 ***$$

***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$.

3.2. Evapotranspiration and water use efficiency

The main and interactive effects of irrigation intervals and salinity on evapotranspiration were statistically significant (Table 2). Evapotranspiration followed the order $I_1 > I_2 > I_3$, and for I_2 and I_3 , it decreased by 19.2 % and 28.60 %, respectively, compared to I_1 (Table 4). By increasing the irrigation water salinity, evapotranspiration decreased statistically significantly, and no statistical difference was determined between S_1 and S_2 treatments. Evapotranspiration in S_3 , S_4 , S_5 , and S_6 decreased by 5%, 14%, 16%, and 28%, respectively, compared to S_1 .

It is thought that the increase in soil salinity was effective on the decrease in plant water consumption since the water and nutrient intake of plants decreased due to the effect of osmotic conditions due to high salinity. Similar to our results, Unlukara et al. (2008) and Jiang et al. 2012 determined that increased irrigation water salinity decreased evapotranspiration on lettuce and wheat. The highest evapotranspiration value was obtained at $I_1 \times S_1$ with the lowest irrigation water salinity (0.38 dS m^{-1}) and lowest irrigation interval (4 days), while the lowest evapotranspiration value was obtained under the conditions with the highest irrigation water salinity and irrigation interval ($I_3 \times S_6$). The evapotranspiration in $I_2 \times S_2$ and $I_3 \times S_2$ treatments decreased by 14% and 33%, respectively, when compared to the $I_1 \times S_2$ treatment. There was no statistically significant difference in evapotranspiration for all salinity treatments of I_3 except S_6 . Turhan and Kuşcu (2019) examined the effect of different water salinity levels on salt tolerance, evapotranspiration, plant height, leaf area of eggplant in the greenhouse. The results indicated that the evapotranspiration of eggplant was significantly affected by increasing salinity levels.

The irrigation water salinity and irrigation intervals had linear and curvilinear effects on evapotranspiration (Fig 2). Evapotranspiration decreased sharply with irrigation intervals up to 6 days and decreased linearly after that at all irrigation water conditions. Furthermore, evapotranspiration declined increasingly at all irrigation water saline conditions.

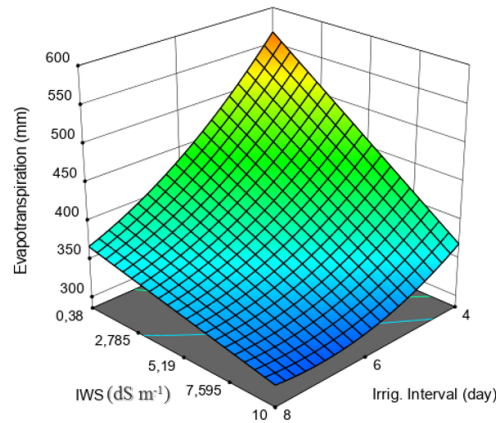


Figure 2. The interactive effects of irrigation interval (I) and salinity (S) and on evapotranspiration (ET).

$$ET = 380.658 - [64.19x(I)] - [63.07x(S)] + [34.98x(IxS)] + [24.24x(I)^2]$$

$$SE = [6.30] [4.52]^{***} [5.27]^{***} [6.46]^{***} [7.659]^{**} \quad r^2 = 0.889^{***}$$

***: p < 0.001, **: p < 0.01.

Table 4. The interaction effect of irrigation interval (I) and salinity (S) on black carrot evapotranspiration, water use efficiency, soil salinity, and soil pH

Irrigation Intervals Effect (I)	ET (mm)	WUE	Soil EC (dS m ⁻¹)	Soil pH	
I ₁ (4 days)	483.6 ± 18.6a	0.52 ± 0.01a	6.96 ± 1.03a	7.32 ± 0.07a	
I ₂ (6 days)	390 ± 13.4b	0.62 ± 0.03a	7.03 ± 1.44a	7.35 ± 0.07a	
I ₃ (8 days)	344.9 ± 9c	0.59 ± 0.02b	6.14 ± 0.86b	7.19 ± 0.03b	
Salinity Effect (S)					
S ₁ (0.38 dS m ⁻¹)	457.1 ± 34.1a	0.64 ± 0.02a	0.68 ± 0.05f	7.72 ± 0.04a	
S ₂ (1.50 dS m ⁻¹)	440.3 ± 22.8ab	0.63 ± 0.02a	2.82 ± 0.32e	7.48 ± 0.02b	
S ₃ (3.0 dS m ⁻¹)	435.1 ± 25.3b	0.54 ± 0.02b	5.13 ± 0.28d	7.3 ± 0.04c	
S ₄ (5.0 dS m ⁻¹)	393.7 ± 20.8c	0.56 ± 0.04b	8.63 ± 0.38c	7.18 ± 0.03d	
S ₅ (7.0 dS m ⁻¹)	382.8 ± 18.9c	0.55 ± 0.03b	9.92 ± 0.27b	7.08 ± 0.05e	
S ₆ (10.0 dS m ⁻¹)	327.7 ± 10.7d	0.52 ± 0.02b	13.07 ± 0.49a	6.96 ± 0.04f	
Irrigation Intervals x Salinity Interaction					
I ₁	S ₁	587.5 ± 14.3a	0.57 ± 0.03	0.66 ± 0.03	7.79 ± 0.06
	S ₂	513.5 ± 7.9b	0.58 ± 0.01	3.28 ± 0.33	7.53 ± 0.06
	S ₃	525.9 ± 15.6b	0.48 ± 0.02	6.11 ± 0.11	7.3 ± 0.1
	S ₄	473.4 ± 6.3c	0.49 ± 0	8.42 ± 0.83	7.23 ± 0.04
	S ₅	448.7 ± 25.2cd	0.48 ± 0.03	10.04 ± 0.59	7.14 ± 0.08
	S ₆	352.4 ± 25.2e	0.5 ± 0.03	13.23 ± 0.59	6.95 ± 0.08
I ₂	S ₁	416.5 ± 18.5d	0.69 ± 0.04	0.71 ± 0.06	7.74 ± 0.05
	S ₂	448.7 ± 7.3cd	0.64 ± 0.01	2.49 ± 0.97	7.47 ± 0.01
	S ₃	421.5 ± 16.1d	0.6 ± 0.01	4.66 ± 0.43	7.4 ± 0.04
	S ₄	473.4 ± 17.1e	0.49 ± 0.07	8.42 ± 0.14	7.23 ± 0.04
	S ₅	360.6 ± 11.6e	0.61 ± 0.08	10.53 ± 0.24	7.16 ± 0.02
	S ₆	337.9 ± 1.6e	0.52 ± 0.04	14.07 ± 1.19	7.06 ± 0.02
I ₃	S ₁	367.4 ± 10.1e	0.67 ± 0.03	0.67 ± 0.16	7.64 ± 0.08
	S ₂	358.8 ± 8.8e	0.67 ± 0.03	2.7 ± 0.14	7.44 ± 0.02
	S ₃	357.9 ± 2.3e	0.54 ± 0.03	4.62 ± 0.17	7.19 ± 0.01
	S ₄	353 ± 9.2e	0.54 ± 0.06	7.76 ± 0.21	7.07 ± 0.02
	S ₅	339.2 ± 12.3e	0.55 ± 0.02	9.2 ± 0.18	6.93 ± 0.03
	S ₆	292.9 ± 5.7f	0.55 ± 0.03	11.92 ± 0.39	6.87 ± 0.03
LSD _{0.05} I	15.40**	0.037**	0.56**	0.06**	
LSD _{0.05} S	21.31**	0.052**	0.78**	0.085**	
LSD _{0.05} I x S	36.92**	0.089 ^{ns}	1.35 ^{ns}	0.15 ^{ns}	

The values marked with different letters show statistically significance at p < 0.05; ns = not significant; *p < 0.05; ** p < 0.01.

Water use efficiency (WUE) was significantly affected by irrigation interval and irrigation water salinity, while their interaction was not statistically significant (Table 2). The WUE of I₁, I₂, I₃ were 0.52, 0.62, and 0.59 g mm⁻¹ at the same salinity level, respectively, and there was no statistical difference between I₂ and I₃ (Table 4). The WUE value decreased as irrigation salinity increased, and the difference in WUE was insignificant between S₁ and S₂. Irrigation salinity up to 1.5 dS m⁻¹ has no negative effect on water use efficiency. Ors and Suarez (2016) stated that salinity had a negative effect on WUE.

3.3. Soil salinity and soil pH

Soil salinity showed significant differences with irrigation interval and salinity; however, interactions of the effect of the treatment were not significant (Table 2). There was no statistical difference between I₁ and I₂ in terms of soil salinity. The average soil salinity in I₃ was 11.6 % less than in I₁. Evapotranspiration of I₃ was the lowest, so the soil salinity was lower than other irrigation intervals (Table 4).

The highest salinity in the soil was in the I₆ treatments in all irrigation intervals, while the lowest was in the S₁ treatments. There was no increase in salinity values of S₁ soils from the beginning of the experiment for all irrigation intervals. Similar to our results, the increase in irrigation water salinity caused an increase in soil salinity, and the decrease in irrigation water amount for the same salinity level decreased the soil salinity (Chen et al., 2017; Mosaffa and Sepashah, 2019).

The relationship between mean values of soil salinity and other parameters (yield, evapotranspiration, chlorophyll content, and fruit juice salinity) obtained from the three irrigation intervals is shown in (Fig. 3). The yield decreased linearly with the increase in soil salinity at all irrigation intervals, and the growth reduction per unit increase in soil salinity for yield at I₁, I₂, and I₃ was 3.83%, 2.93%, and 3.03% per dS m⁻¹, respectively. Evapotranspiration significantly decreased with increased soil salinity for all irrigation intervals and decreased by 18.71 mm, 5.85 mm, and 6.63 mm for I₁, I₂, and I₃, respectively, with the increase in soil salinity by 1 dS m⁻¹. The reduction in chlorophyll content of I₁ and I₂ similarly occurred with the increase in soil salinity, whereas the chlorophyll content of I₃ decreased sharply compared to I₁ and I₂. This may be due to excessive water stress on I₃ and, thus, decreased soil water availability for crops. The fruit juice salinity increased linearly with increasing soil salinity. The effect of soil salinity on fruit juice salinity was found to be higher than the irrigation interval.

The main effect of irrigation level and irrigation water salinity on soil pH was significant. I₁ and I₂ treatments were significantly higher than I₃ treatments. The value of soil pH was reduced significantly as the irrigation water salinity increased, and the highest mean pH value was 7.72 for S₁ (Table 4).

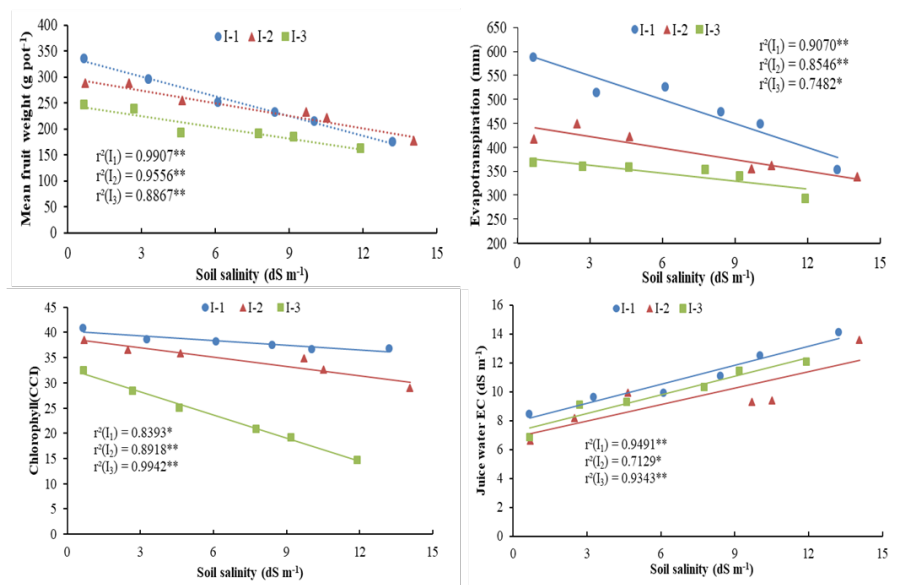


Figure 3. Relationships between mean fruit weight, evapotranspiration, chlorophyll juice water EC with soil salinity. (** p < 0.01, * p < 0.05).

3.4. Yield response factor

The relative yield reduction (K_y) value was calculated by using fruit weights obtained from the I_1 treatment with the highest yield, and the K_y value was determined to be 1.39 (Fig. 4). When $K_y \leq 1$ is higher, the plant is tolerant of salinity-related drought (Katerji et al., 1998). In literature, there is no report about the black carrot, but Carvalho et al. (2016) reported that the K_y value of carrot was 0.82 under different irrigation regimes. The black carrot was found to be sensitive to water stress caused by salt stress. Moreover, when saline water was applied for black carrot irrigation, the yield was significantly affected by saline water.

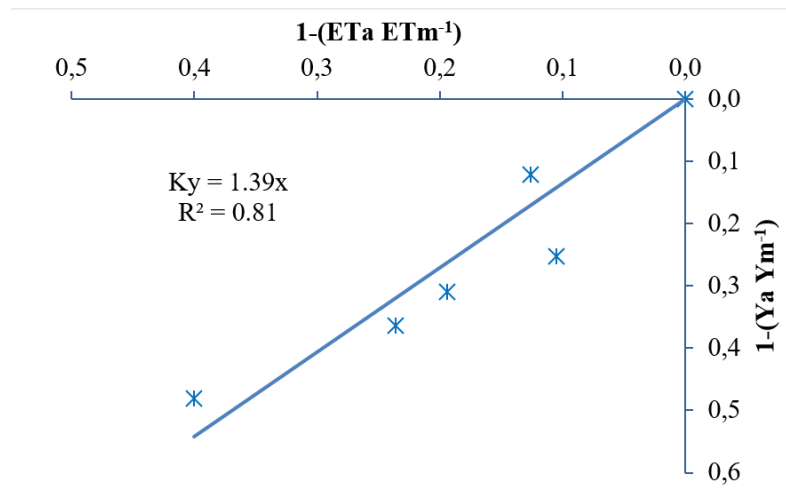


Figure 4. Relationship between relative evapotranspiration and yield of the black carrot plant.

Conclusion

This study investigated the interaction effects of irrigation interval salinity on the yield, yield parameters, evapotranspiration, and water use efficiency of black carrots. As the irrigation water salinity increased, soil salinity and SSC values increased, but yield, evaporation, chlorophyll, and soil pH values decreased. There was no statistically significant difference between the yields of I_1 and I_2 , irrigated with water having the same salinity except for I_1S_1 . It can be concluded that the 4 and 6 days irrigation intervals will provide the same yield under the same water salinity treatment. The highest yield was obtained from I_1S_1 and the lowest yield from I_3S_6 , and the difference was a 42.20 % decrease in yield. A linear relationship between soil salinity, yield, and evapotranspiration was observed, and a unit increase in soil salinity caused a decrease in plant yield of 2.93 % to 3.83 %, depending on the irrigation interval. Irrigation water salinity up to 1.5 $dS\ m^{-1}$ was determined not to cause a significant reduction in yield, and the K_y value of black carrot was calculated as 1.39. The carrot plant was found to be sensitive to salinity and water stress. The irrigation interval should be a maximum of 6 days to avoid a decrease in the yield of black carrot, and more frequent irrigation should be done in case of using high saltwater. Water deficit under saline conditions may cause more yield reduction in plants. It is definitely recommended to carry out additional studies to investigate the combined effects of salinity and drought stress on plants.

References

- Abd El-Halim, A.A., & Abd El-Razek, U. (2014). Effect of different irrigation intervals on water saving, water productivity and grain yield of maize (*Zea mays* L.) under the double ridge-furrow planting technique. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60.
- Abedinpour, M., & Rohani, E. (2016). Effects of magnetized water application on soil and maize growth indices under different amounts of salt in the water. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 7(3): 319-325.

- Ahmed, N., Mahmud, N., Zaman, M. A., Ferdous, Z., & Halder, S.C. (2017). Effect of Different Salinity Level on Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Production under Climate Change Condition in Bangladesh. *Annu. Res. Rev. Biol*, 13(3): 1-9.
- Arslan, H., Kiremit, M. S., & Gungor, A. (2018). Impacts of different water salinity levels on salt tolerance, water use, yield, and growth of chives (*Allium schoenoprasum*). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(20): 2614-2625.
- Ayers R. S., & Westcot, D. W. (1989). Water Quality for Agriculture. *Irrigation and Drainage Paper*, No. 29, FAO, Rome. 174 p.
- Azder, G., Gocmen, E., & Istanbuluoglu, A. (2020). Effects of Different Irrigation Levels on Yield and Yield Components of Kapyra Pepper (*Capsicum Annum* Cv. *Kapija*) Under Tekirdag Conditions. *Journal of Tekirdag Agriculture Faculty*, 17(3), 422-431.
- Bell, J. M., Schwartz, R., McInnes, K. J., Howell, T., & Morgan, C.L. (2018). Deficit irrigation effects on yield and yield components of grain sorghum. *Agricultural Water Management*, 203: 289-296.
- Cakmakci, O., Cakmakci, T., Durak, E. D., Demir, S., & Sensoy, S. (2017). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi in melon (*Cucumis melo* L.) seedling under deficit irrigation. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(12), 7513-7520.
- Carvalho, D., N. Oliveira, Dionizio, H., Felix, L. F., Guerra, J. G. U. & Salvador, C.A. (2016). Yield, water use efficiency, and yield response factor in carrot crop under different irrigation depths. *Ciência Rural*, 46(7): 1145-1150
- Chen, L., Li, C., Feng, Q., Wei, Y., Zheng, H., Zhao, Y., & Li, H. (2017). Shifts in soil microbial metabolic activities and community structures along a salinity gradient of irrigation water in a typical arid region of China. *Science of the Total Environment*, 598: 64-70.
- Coban, F., Ozer, H., Ors, S., Sahin, U., Yildiz, G., & Cakmakci, T. (2018). Effects of deficit irrigation on essential oil composition and yield of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) in a high-altitude environment. *Journal of Essential Oil Research*, 30(6), 457-463.
- Çakmakci, T., Çakmakci, Ö., Şensoy, S., & Şahin, Ü. (2021). The effect of biochar application on some physical properties of pepper (*capsicum annum* L.) in deficit irrigation conditions. *Vth International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress*, 23 October, 38-44.
- Dastranj, M., & Sepaskhah, A. R. (2019). Saffron response to irrigation regime, salinity and planting method. *Scientia Horticulturae*, 251, 215-224.
- Desire, M., & Arslan, H. (2021). The Effect of Salicylic Acid On Photosynthetic Characteristics, Growth Attributes, and Some Antioxidant Enzymes on Parsley (*Petroselinum crispum* L.) Under Salinity Stress. *Gesunde Pflanzen*, 73, 435-444.
- Doorenbos, J., & Kassam A.H. (1986). Yield response to water. FAO. *Irrigation and Drainage Paper* No:13.Rome. 193p.
- Ekinci, R., & Basbag, S. (2019). Determination of the effects of limited irrigation on some morphological properties of cotton (*G. hirsutum* L.). *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 29(4), 792-800.
- El-Mogy, Mohamed. M., Garchery, C., & Stevens, R. (2018). Irrigation with saltwater affects growth, yield, fruit quality, storability and marker-gene expression in cherry tomato. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B. Soil & Plant Science*, 68(8): 727-737.
- Guzel, S., Odun, U. C., Cakmakci, T., Cakmakci, O., & Sahin, U. (2018). The effect of cucumber (*Cucumis sativus*) cultivation in aquaponic and hydroponic systems on plant nutrient elements and antioxidant enzyme activity. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(1), 553-558.
- Hancioglu, N. E., Kurunc, A., Tontul, I., & Topuz, A. (2019). Irrigation water salinity effects on oregano (*Origanum onites* L.) water use, yield and quality parameters. *Scientia Horticulturae*, 247, 327-334.
- Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Mokhtassi-Bidgoli, A., Mohammadi, H., & Nicola, S. (2017). Effects of zeolite and water stress on growth, yield and chemical compositions of aloe vera, I. *Agric. Water Manage.* 181: 66-72.
- Howell, T. A., Cuenca, R. H., & Solomon, K. H. (1990). Crop yield response. In Chapter 5 in management of farm Irrigation Systems, ed. by G. J. Hoffman, T. A. Howell, and K. H. Solomon, 93-122. St. Joseph, MI: *American Society of Agricultural Engineers Monograph*, ASAE. 1040 pp.

- Jiang, J., Huo, Z.L., Feng, S.F., & Zhang, C.B. (2012). Effect of irrigation amount and water salinity on water consumption and water productivity of spring wheat in Northwest China. *Field Crop Res.* 137: 78–88
- Katerji N., Hoorn, J. W., Hamdyc, A., & Mastrorilli, M. (1998). The response of Tomatoes, A Crop of Indeterminate Growth, to Soil Salinity. *Agricultural Water Management* 38: 59- 68.
- Kim, H., Jeong, H., Jeon, J., & Bae, S. (2016). Effects of Irrigation with Saline Water on Crop Growth and Yield in Greenhouse Cultivation. *Water*, 8: 127
- Kiran, S., Kusvuran, S., Ates, C., & Ellialtıoglu, S.S. (2018). The changes of fruit quality parameters at using of different eggplant rootstock/scion combinations which growing under salt and drought stress. *Derim*, 35(2): 111-120.
- Kiremit, M. S., & Arslan, H. (2016). Effects of irrigation water salinity on drainage water salinity, evapotranspiration and other leek (*Allium porrum* L.) plant parameters, *Scientia Horticulturae*, 201: 211-217.
- Kiremit, M. S., & Arslan, H. (2018). Response of Leek (*Allium porrum* L.) to different irrigation water levels under rain shelter. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49: 1-10.
- Korkmaz, A., Karagöl, A., & Horuz, A. (2016). The effects of humic acid added into the nutrient solution on yield and some fruit quality properties of tomato plant under the increasing NaCl stress conditions. *Anadolu J Agr Sci*, 31(2): 275-282.
- Mosaffa, H. R., & Sepaskhah, A. R. (2019). Performance of irrigation regimes and water salinity on winter wheat as influenced by planting methods. *Agricultural Water Management*, 216: 444-456.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell and environment*, 25(2): 239-250.
- Ors, S., and Suarez, D.L. (2016). Salt tolerance of spinach as related to seasonal climate. *Hortic. Sci* 43, 33–41.
- Ors, S., Ekinci, M., Yildirim, E., Sahin, U., Turan, M., & Dursun, A. (2021). Interactive effects of salinity and drought stress on photosynthetic characteristics and physiology of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings. *South African Journal of Botany*, 137, 335-339.
- Ozturk, I., & Korkut, K. Z. (2018). The Effect of Drought in Different Development Periods on Yield and Yield Components in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L) Genotypes. *Journal of Tekirdag Agriculture Faculty*, 15(2), 128-137.
- Puvanitha, S., & Mahendran. S. (2017). Effect of salinity on plant height, shoot and root dry weight of selected rice cultivars. *Sch J Agric Vet Sci* 4(4), 126–131.
- Ramezanifar, H., Yazdanpanah, N., Golkar Hamzee Yazd, H., Tavousi, M., & Mahmoodabadi, M. (2021). Spinach Growth Regulation Due to Interactive Salinity, Water, and Nitrogen Stresses. *J Plant Growth Regul.* <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10407-1>.
- Reis M., Coelho, L., Santos, G., Kienle, U., & Beltrão, J. (2015). Yield response of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to the salinity of irrigation water. *Agricultural Water Management*, 152: 217-221.
- Rodrigues, V.D.S., Bezerra, F.M., Sousa, G.G.D., Fiusa, J.N., Leite, K.N., & Viana, T.V.D.A. (2020). Yield of maize crop irrigated with saline waters. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, 24 (2): 101-105.
- Rostami, A., & Amiri, E. (2018). Responses of Tomato Cultivars to Water-Deficit Conditions (Case Study: Moghan Plain, Iran). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(18), 2267-2283.
- Ruiz, M.S., Yasuor, H., Ben-Gal, A., Yermiyahu, U., Saranga, Y., & Elbaum R. (2015). Salinity induced fruit hypodermis thickening alters the texture of tomato (*Solanum lycopersicum* Mill) fruit. *Sci Hortic.* 192:244–249.
- Sahin, U., Kuslu, Y., Kiziloglu, F. M., & Cakmakci, T. (2016). Growth, yield, water use and crop quality responses of lettuce to different irrigation quantities in a semi-arid region of high altitude. *Journal of Applied Horticulture*, 18(3).
- Sahin, U., Ekinci, M., Ors, S., Turan, M., Yildiz, S., & Yildirim, E. (2018). Effects of individual and combined effects of salinity and drought on physiological, nutritional, and biochemical properties of cabbage (*Brassica oleraceavar. capitata*). *Sci. Hortic.* 240(20), 196–204.

- Sepaskhah, A. R., & Yarami, N. (2009). Interaction effects of irrigation regime and salinity on flower yield and growth of saffron. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(2): 216-222.
- Shah, S.H., Houborg, R., & McCabe, M.F., (2017). Response of chlorophyll, carotenoid and SPAD-502 measurement to salinity and nutrient stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agronomy*, 7:61.
- Turhan, A., & Kuşcu, H. (2019). Tuzluluk Stresinin Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) Su Kullanım Etkinliği, Verim Bileşenleri, Yaprak Klorofil ve Karotenoid İçeriği Üzerine Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(1), 61-68.
- Unlukara, A., Cemek, B., Kesmez, D.G., & Ozturk, A. (2011). Carrot (*Daucus carota* L.) yield and quality under salinity conditions. *Anadolu J Agr Sci.*, 26(1): 51–56.
- Unlukara, A., Kurunc, A., Kesmez, D.G., & Yurtseven, E. (2008). Growth and evapotranspiration of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) as influenced by salinity of irrigation water. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*. ASCE.0733-9437/134:28160).3.
- Yavuz, D., Yavuz, N., Seymen, M., & Türkmen, Ö. (2015). Evapotranspiration, crop coefficient and seed yield of drip irrigated pumpkin under semi-arid conditions. *Scientia Horticulturae*, 197: 33-40.
- Yerli, C., Şahin, Ü., Kızıloğlu, F.M., Tüfençi, Ş., & Örs, S. (2019). Van ilinde silajlık mısır, patates, şeker pancarı ve yoncanın su ayak izi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(2), 195-203.
- Yuan, C., Feng, S. Huo, Z. & Ji, Q. (2019). Effects of deficit irrigation with saline water on soil water-salt distribution and water use efficiency of maize for seed production in arid Northwest China. *Agricultural Water Management*, 212: 424-432.
- Yurtseven, E., Ozturk, H.S., Avci, S. S. Altinok., & M.F. Selenay. (2012). Soil Salinity Changes Due to Different Irrigation Water Salinity and Leaching Fractions. *Soil, Water Journal*, 1 (1):38-46.



ISSN: 1308-7576

Research Article

Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



e-ISSN: 1308-7584

Agricultural Residues in Turkey: Energy Potential and Evaluation of Existing Biomass Power Plants

Ayşegül BAHADIROĞLU¹, Buse Nur ATAY², Sibel BAŞAKÇILARDAN KABAKCI^{*3}

^{1,2,3} Yalova University, Engineering Faculty, Energy Systems Engineering Department, 77100, Yalova, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-2874-0855>, ²<https://orcid.org/0000-0002-4848-197X>, ³<https://orcid.org/0000-0001-9717-5111>

*Corresponding author e-mail: sibel.kabakci@yalova.edu.tr

Article Info

Received: 29.11.2021

Accepted: 28.02.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1030233

Keywords

Agricultural residues/wastes,
Biomass power plant,
Biomass pretreatment,
Energy potential,
Supply chain

Abstract: Biomass energy gains importance constantly in order to increase energy security, diversity and develop the rural economy. Most of the existing biomass energy power plants in Turkey use solid waste, it is extremely important to encourage the use of agricultural residues in these facilities. In this study, agricultural residues were examined under two headings: primary residues (PR) are the residues left in the field after harvest (corn stalk, wheat straw, etc.), and secondary residues (SR) are the residues after the products are processed in the factory (almond shell, corn cob, etc.) When calculating the amount of agricultural residues, special uses such as soil protection, animal feeding, heating purposes are taken into account. The most cultivated products across 81 provinces in Turkey are listed and the residues are concentrated on products with high calorific value. The amount of primary and secondary residues belonging to these agricultural products was extracted and mapped based on provinces. Then the energy potential of these residues was calculated. The total amount of PR and SR produced in Turkey is 39 412 683 tonnes and 6 803 787 tonnes. By assuming the total efficiency of the power plant as 30% and the capacity factor of the biomass power plant as 0.65, the power to be obtained from only PRs will be 2 438.5 MW and from only SR will be 830 MW in the total of 81 provinces. Based on AHP method, cost is the most important criterion in the selection of pretreatment before transportation.

To Cite: Bahadıroğlu, A, Atay, B N, Başakçılardan-Kabakçı S, (2022). Agricultural Residues in Turkey: Energy Potential and Evaluation of Existing Biomass Power Plants. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 119-131.
DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1030233>

Türkiye'deki Tarımsal Atıklar: Enerji Potansiyeli ve Mevcut Biyokütle Santrallerinin Değerlendirilmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 29.11.2021

Kabul: 28.02.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1030233

Öz: Biyokütle enerjisi; enerji güvenliğini, çeşitliliğini artırmak ve kırsal ekonomiyi geliştirmek için devamlı önem kazanmaktadır. Türkiye'deki mevcut biyokütle enerji tesislerinin daha fazla atık kullandığı bilinmesine rağmen, bu tesislerde tarımsal atıkların kullanımının teşvik edilmesi son derece önemlidir. Bu çalışmada tarımsal atıklar iki başlık altında incelenmiştir: birincil atıklar (BA), hasat sonrası tarlada kalan atıklardır (mısır sapı, buğday samanı, vb.), ikincil atıklar (İA) ise ürünlerin fabrikada işlenmesinden sonra kalan atıklardır (badem kabuğu, mısır koçanı, vb.). Tarımsal kalıntı miktarı hesaplanırken toprağın korunması, hayvanların beslenmesi, ısınma amaçlı gibi özel kullanımlar dikkate

Anahtar Kelimeler

Tarımsal atıklar/atıklar,
Biyokütle Santrali,
Biyokütle ön işlem,
Enerji potansiyeli,
Tedarik zinciri

alınır. Türkiye'de 81 ilde en çok ekilen ürünler listelenmiş ve kalori değeri yüksek ürünlerin atıkları üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu tarım ürünlerine ait birincil ve ikincil atık miktarları iller bazında ayıklanmış ve haritalanmıştır. Daha sonra bu atıkların enerji potansiyeli hesaplanmıştır. Türkiye'de üretilen toplam BA ve İA miktarı yıllık 39 412 683 ton ve 6 803 787 tondur. Santralin toplam verimi %30 ve biyokütle santralının kapasite faktörünün 0.65 olduğu varsayıldığında, toplam 81 ilde sadece BA'dan yılda 2 438,5 MW ve sadece İA'dan yılda 830 MW güç elde edilecektir. AHP yöntemine göre, nakliye öncesi ön işlem seçiminde maliyet en önemli kriterdir.

1. Introduction

Energy has been one of the basic inputs for economic and social development throughout human history. The increase in population, the development of technology, and rapid urbanization increase the demand for energy day by day. It is known that a large part of this demand is met by fossil fuels. But fossil resources are finite. In addition, carbon dioxide, which is formed as a result of the burning of fossil fuels, is one of the most important greenhouse gases that cause climate change. It is a necessity to give up fossil resources in the fight against climate change. Renewable energy should be used more and more to meet the energy demand, and it will also contribute to the energy security of countries (Cergibozan, 2022). Renewable energy resources are sustainable resources that can renew themselves in a human lifetime. Renewable energy includes solar energy, wind energy, hydro energy, biomass energy, geothermal energy, tidal energy, ocean thermal energy, and wave energy (Murele et al., 2020).

The place of biomass is different among renewable energy sources. Biomass can be used directly for heat and power generation, or it can be processed into fuel, bio-based material, or chemicals. Biomass is defined as organic materials that can be renewed in less than a 100-year period, including plant wastes/residues, animal waste/residues, food industry wastes, energy forestry, energy plants, and urban wastes (Ioannidou et al., 2020).

The use of biomass in energy production strengthens the rural economy, increases energy security, and minimizes the environmental impact of energy production. For Turkey, the total energy potential that will contribute to the economy is estimated as 16.92 Mtoe (Ozturk et al., 2017). Due to its relatively low calorific value, high moisture content, and low bulk density, the need to use large amounts of biomass to produce the desired energy is among the most important challenges. The supply and logistics of sufficient biomass are also a challenge. Because the amount and content of most biomass are affected by time, season, and climatic conditions (Werther et al., 2000).

Among the biomass resources, agricultural biomass requires a special supply chain management due to seasonal availability (Rentizelas et al., 2009). A typical agricultural biomass supply chain may involve a combination of the following processes: field preparation, cultivation, harvesting, storage, field/forestry transport, road transport, and biomass use at the power station (Nunes et al., 2020). The low density of biomass further increases the cost of the collection, processing, transportation, and storage stages of the supply chain. But when the supply chain is set up correctly, energy from biomass can be cheaper than others. However, for biomass integration into an available energy supply chain to be beneficial, the energy materials used must be from the local source (Murele et al., 2020). The reason for that is delivery times are more predictable when biomass materials are sourced locally. It also results in a shorter supply chain, with lower costs and greenhouse gas emissions (Murele et al., 2020).

Agricultural biomass types are generally characterized by seasonal availability. The period in which these biomass types are available is very limited and is determined by the harvest season of the product, weather conditions, and the need for re-planting of the fields. Since most of the biomass energy applications up to the present have been related to the use of single biomass, there is a need for storage of huge amounts of biomass over a significant time if the operation of the power plant is desired throughout the year. Dry matter loss and degradation of biomass are the main risks of storage, and this problem can be eliminated with proper storage (Nunes et al., 2020).

Although pretreatment is not mandatory, it plays an important role in the supply chain. Biomass has several disadvantages during storage, transportation, and combustion because of the low density, low heating value, high moisture content, or high volatile matter. Besides, pretreatment of biomass extends the durability period of this biomass (Murele et al., 2020).

In recent years, Turkey has been promoting biomass energy to increase energy security and ensure energy diversity. It is seen that the use of solid wastes, sewage sludge, agro-industrial wastes, and animal manure in existing biomass power plants is common. However, Turkey also generates a large amount of agricultural residue due to its geographical location and agricultural production. It is seen that these wastes are concentrated in different provinces of Turkey.

In the present study, the amount and distribution of agricultural residues in Turkey on the basis of provinces and the energy potential of these residues were calculated. It was also examined whether the existing biomass power plants benefit from this potential. Moreover, the analytical hierarchy process method was used for deciding the most preferred pretreatment method to ease the transport and storage of agricultural residues.

2. Material and Methods

2.1. Collection of data

In the present study, agricultural residues were categorized as primary residues (PR) and secondary residues (SR). PR is the crop residue that is collected from the field directly after harvest. Stalk, stover, and straw of the crops are examples of this kind. SR is the crop residue which is obtained during the processing of the crop. Husks, shells, etc., can be included in this category. The PR data has been collected by the Ministry of Energy and Natural Resources (MoE) in Turkey and the Turkish Statistical Institute for the years 2019-2020. Both organizations publish the yearly data based on province. However, the data for SR has never been recorded by any of the organizations. Therefore, SR data was calculated by multiplying the crop production rate with the percent of husk or shell found in the crop. Fuel properties in terms of proximate analysis and heating value of each PR and SR were collected from different papers. Existing biomass power plants in Turkey (both licensed and unlicensed), their capacities, and the type of feedstock that they are using were all collected from MoE.

2.2. Methodology

The present study consists of three parts. In which provinces and what quantity of PR and SR were produced in Turkey were investigated first. For calculating the energy potential, a lower heating value (LHV) was multiplied with the annual amount of residue of each crop listed under either PF or FS. Then, the existing biomass power plants in Turkey and what kind of biomass is used in these plants were investigated. In the third stage, the proximity of the provinces with high PR and SR potential to the existing power plants and whether the biomass potential reaches the nearest power plant were investigated. Analytic Hierarchy Process method was applied to rank the criteria (cost of pretreatment, enhancement in heating value, requirement of size reduction, transport easiness, density enhancement, storage easiness) that affect the selection of pretreatment method by their importance. The formulation of the AHP method is extensively explained by Brunelli (2015).

3. Results

3.1. Energy potential of PR and SR in Turkey

Cornstalk, wheat straw, sunflower stalk, cotton stalk, rye straw, barley straw, and oat straw constitute the majority of PR. The distribution of PR produced in Turkey by provinces is shown in the map chart in Figure 1. The total amount of PR produced in Turkey is 39 412 683 tonnes. Among the provinces, Konya is the province with the highest PR production (4 875 500 tonnes). The second province that contributes the most to PR production is Şanlıurfa (2 518 368 tonnes). Adana comes after these provinces (with 2 331 890 tonnes) that contribute to total production.

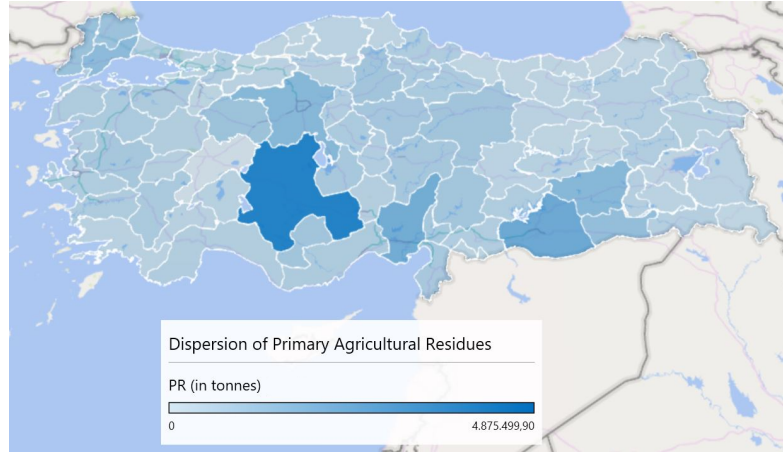


Figure 1. Distribution of PR produced in Turkey by provinces.

Almond shell, corn cob, hazelnut shell, olive husk, peanut shell, sunflower husk, walnut shell, and wheat husk are the major constituents of SR in Turkey. SR, which is less in amount compared to PR, is produced more in industrially developed provinces. The distribution of SR produced in Turkey by provinces is shown in the map chart in Figure 2. Konya is the province that contributes the SR production most (729 724 tonnes). Almond shell is mainly produced in Mersin (11 313 tonnes). Corn cob and wheat husk are mainly produced in Konya (165 681 tonnes of corn cob and 407 587 tonnes of wheat husk). Ordu, which meets the majority of hazelnut production in Turkey, is also a leader in hazelnut shell production (144 318 tonnes). Since most of the olive production in Turkey is in the Aegean and southern Marmara regions, it is seen that the processing of olives is also in this region. Manisa is the province with the highest amount of olive husk (41 859 tonnes). Adana, which has a great contribution to agricultural production, is also ahead in peanut shell production (39 534 tonnes). Sunflower husk is majorly produced in Tekirdag (173 751 tonnes). Walnut shell has the lowest contribution to total SR in Turkey, which is mainly produced in Kahramanmaraş (8 412 tonnes).

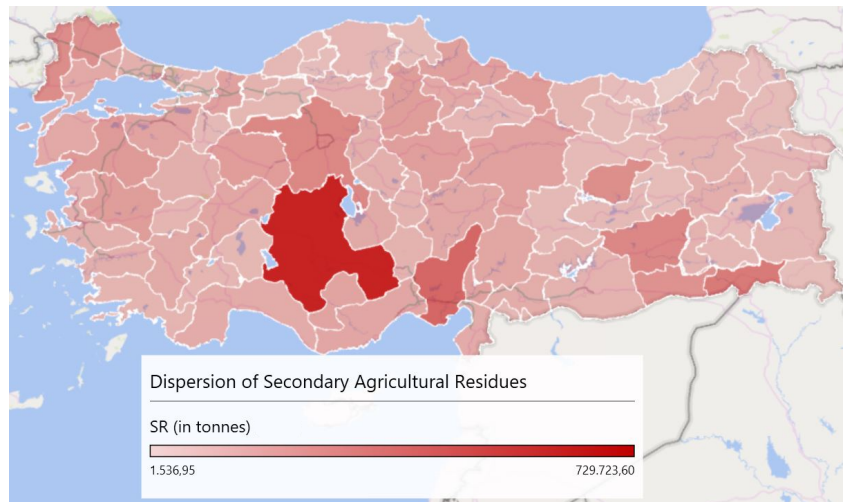


Figure 2. Distribution of PR produced in Turkey by provinces.

Energy, which is released via combustion (Q) of any agricultural residue listed under PR, is calculated by using the amount of annual agricultural residue (R , in kg/year), lower heating value (LHV, in MJ/kg) of the corresponding biomass, moisture content (MC) of the corresponding biomass and the availability of the agricultural residue (A) (Polat, 2020) as shown in equation 1,

$$Q \left(\frac{Mj}{year} \right) = R \times (1 - MC) \times A \times LHV \quad (1)$$

The energy released by the combustion of SR can also be calculated by using equation 1. Since the annual amount of SR is not listed or recorded, R for SR is calculated by multiplying the annual agricultural production amount (P) with residue ratio (S), as seen in equation 2. P data for corn, wheat, sunflower, walnut, hazelnut, almond, and peanut are all listed on the website of the Turkish Statistical Institute. The residue ratio is the husk or shell ratio of the agricultural product. For corn cob, S is 15% (Patsios et al., 2016), for sunflower husk, it is 50% (Perea-Moreno et al., 2018), for olive husk, S is 13.5% (Khdair & Abu-Rumman, 2020), and for wheat husk, it is 20% (Santos et al., 2019). For the other shells, S is 80% for thick shells and 40% for leaf-like shells (Fornés Comas et al., 2019).

$$R = P \times S \quad (2)$$

The proximate analysis of each PR and SR are given in Table 1 and Table 2.

Table 1. Proximate analysis for common primary residues

	HHV Mj/kg	VM, %	Ash, %	FC, %	BD, kg/m ³	References
Corn Stalk	16.82	74.79	6.47	19.06	57.50	(Avcıoğlu et al., 2019), (Fornés Comas et al., 2019), (García et al., 2014), (Jiang et al., 2019), (Poudel & Oh, 2014), (Zhou et al., 2019)
Wheat Straw	19.09	72.92	9.78	17.15	79.50	(Aqsha et al., 2014), (Avcıoğlu et al., 2019), (Bai et al., 2017), (Bajwa et al., 2018), (Biswas et al., 2017), (Danish et al., 2015), (García et al., 2014), (Havrysh et al., 2021), (Jiang et al., 2019), (Moayedi et al., 2019), (Montero et al., 2016), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012), (Patsios et al., 2016), (Qian et al., 2017), (Ríos-Badrán et al., 2020)
Sunflower Stalks	18.85	85.27	7.81	9.79	112.00	(Jiang et al., 2019), (Morato et al., 2019), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012)
Cotton Stalk	17.05	71.99	10.72	21.93	200.00	(Avcıoğlu et al., 2019), (Bajwa et al., 2018), (Danish et al., 2015), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012), (Tang et al., 2015)
Rye Straw	18.79	83.02	2.92	15.01	0.00	(Avcıoğlu et al., 2019), (García et al., 2014), (Havrysh et al., 2021), (Wang et al., 2016)
Barley Straw	16.69	74.87	5.99	11.67	66.45	(Aqsha et al., 2014), (Avcıoğlu et al., 2019), (García et al., 2014), (Havrysh et al., 2021), (Jiang et al., 2019), (Patsios et al., 2016), (Qian et al., 2017)
Oat Straw	18.52	77.20	8.41	15.43	91.00	(Aqsha et al., 2014), (Bajwa et al., 2018), (Havrysh et al., 2021), (Patsios et al., 2016), (Qian et al., 2017), (Yang et al., 2016)

HHV : Higher Heating Value.
 VM : Volatile Matter Content.
 FC : Fixed Carbon Content.
 BD : Bulk Density.

The energy potential of PRs produced in 81 provinces is 5 283 MW. On the basis of provinces, it is noteworthy that the energy potential of PRs in Konya, Şanlıurfa, and Adana is quite high. The energy content of the PRs that can be collected from Konya alone is 690 MW. This province with great potential is followed by Şanlıurfa (455 MW), Adana (447 MW) and Tekirdağ (268 MW). The energy content of the PRs to be collected from these provinces is 35% of the total potential. Looking at the overall 81 provinces, it is seen that the energy potential of primary agricultural residues produced in 16 provinces is over 100 MW. Of course, 100% of this potential is not converted into electrical energy. If we accept the total efficiency of the power plant as 30% and the capacity factor of the biomass power plant as 0.65, the power to be obtained from only PRs in the total of 81 provinces will be 2 438.5 MW. With the same assumptions, 16 provinces (Konya, Şanlıurfa, Adana, Tekirdağ, Diyarbakır, Mardin, Edirne, Kırklareli, Ankara, Karaman, Osmaniye, Hatay, Manisa, Eskişehir, Aydın and Kahramanmaraş)

hold 67% of the total energy potential. The power plants to be established in these provinces will be between 318 MW (Konya) and 47 MW (Kahramanmaraş). After Konya, there comes Şanlıurfa, Adana and Tekirdağ with 210 MW, 207 MW and 124 MW, respectively.

Table 2. Proximate analysis for common secondary residues

	HHV Mj/kg	VM, %	Ash, %	FC, %	BD, kg/m ³	References
Hazelnut Shell	19.21	73.00	2.22	23.64	560.00	(Acar & Ayanoglu, 2012), (Avcioğlu et al., 2019), (Bajwa et al., 2018), (Bilgiç, 2014), (Demirbas, 2016), (Estiati et al., 2016), (García et al., 2014), (Moayedi et al., 2019), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012), (Qian et al., 2017), (Zhao et al., 2020)
Walnut Shell	20.26	69.24	3.35	27.42	No data available	(Acar & Ayanoglu, 2012), (Avcioğlu et al., 2019), (Estiati et al., 2016), (García et al., 2014), (Moayedi et al., 2019), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012), (Qian et al., 2017)
Olive Husk	18.56	71.45	11.45	25.75	No data available	(Acar & Ayanoglu, 2012), (Demirbas, 2016), (Moayedi et al., 2019), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012), (Patsios et al., 2016), (Qian et al., 2017)
Almond Shell	18.94	79.40	2.94	20.55	No data available	(Avcioğlu et al., 2019), (Danish et al., 2015), (García et al., 2014), (Moayedi et al., 2019), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012), (Qian et al., 2017)
Peanut Shell	19.97	71.97	6.04	21.79	No data available	(Avcioğlu et al., 2019), (Estiati et al., 2016), (Mohammed et al., 2016), (Nhuchhen & Abdul Salam, 2012)
Corn Cob	16.00	81.75	1.85	11.31	155.00	(Avcioğlu et al., 2019), (Biswas et al., 2017), (Danish et al., 2015), (Thanarak, 2012), (Yao et al., 2017)
Sunflower Shell	18.00	76.20	3.05	19.80	95.00	(Acar & Ayanoglu, 2012), (Jiang et al., 2019)
Wheat Husk	17.80	71.40	2.30	19.30	549.00	(Montero et al., 2016), (Santos et al., 2019)

Table 3. Availability, LHV, and MC values for primary residues in Turkey

Product	A (%)	LHV Mj/kg	Moisture %
Barley Straw	15	17.25	8.85
Corn Stalk	60	13.25	11.73
Cotton Stalk	60	16.40	9.56
Oat Straw	15	16.55	7.39
Rye Straw	15	16.55	10.45
Sunflower Stalks	60	16.00	9.20
Wheat Straw	15	16.62	12.65

Table 4. Availability, LHV, and MC values for secondary residues in Turkey

Product	A (%)	LHV Mj/kg	Moisture %
Almond Shell	80	19.38	6.30
Corn Cob	60	14.01	20.44
Hazelnut Shell	80	19.15	7.64
Olive Husk	50	20.69	9.34
Peanut Shell	80	14.05	8.17
Sunflower Husk	60	16.5	8.77
Walnut Shell	80	20.18	20.58
Wheat Husk	15	14.5	6.50

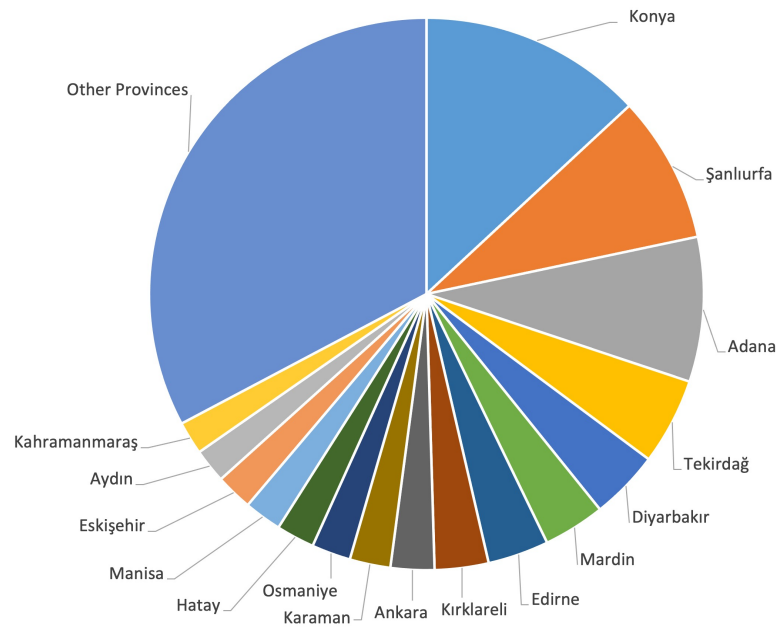


Figure 3. Distribution of the energy potential of PR by provinces.

The figure shows the energy potential distribution of SR on the basis of provinces. The total energy potential of SR across 81 provinces is 1 797.6MW. Approximately 58% of this potential is provided by 17 provinces. Since Adana and Konya are pioneers in SR production, the amount of energy that can be obtained in these provinces is also high. While the energy potential of SRs in Adana is 180MW, it is 168 MW in Konya. These two provinces are followed by Tekirdağ (79 MW) and Ordu (66 MW). It should not be forgotten that, as stated before, we cannot convert all of the chemical energy released by the combustion of biomass into electrical energy and that the biomass power plant cannot operate at maximum capacity. Assuming that the biomass power plant operates at 30% efficiency and the capacity factor is 0.65, the total power that can be obtained from the SR will be 830 MW.

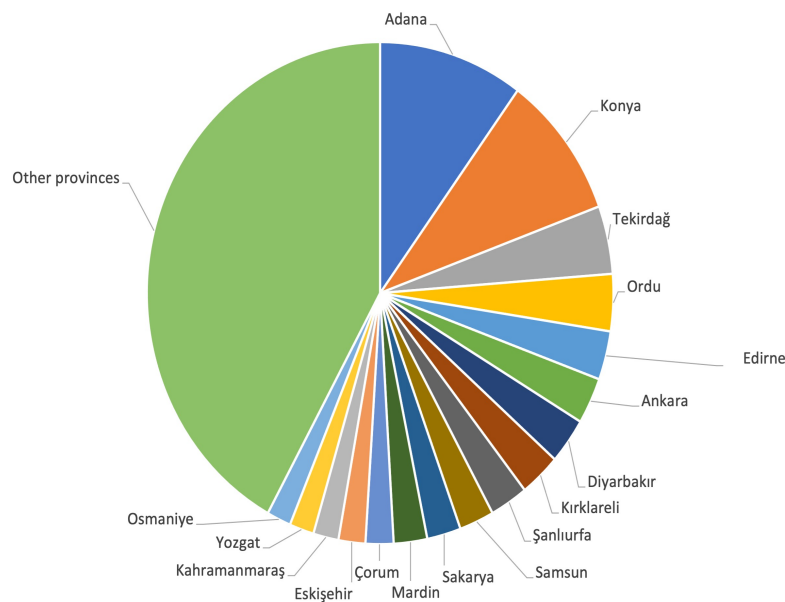


Figure 4. Distribution of the energy potential of SR by provinces.

3.2. Biomass power plants in Turkey

Combustion of biomass is the most common thermochemical conversion technology to produce power, heat, or combined heat and power. In contrast to coal-fired power production, energy from biomass-fired power plants is generally considered “carbon neutral”. The reason for thinking in this way is that the carbon taken from the atmosphere during the growth of biomass is given to the environment at the end of energy production. However, information such as the type of biomass, its life span, the technology chosen, how and at what distance the biomass comes to the power plant are important in deciding whether the biomass energy is carbon-neutral or not. Life cycle assessment is a helpful tool for assessing the environmental effects and impacts of total biomass energy production (Paletto et al., 2019). The biomass energy power plant (BEPP) produces electricity by firing biomass, including agricultural residues/wastes, forestry residues/wastes, and solid waste. Biomass is burned in a boiler to produce high-pressure steam. This steam flows over the turbine blades. The rotation of the turbine drives the generator, which produces electricity (Gebreegziabher et al., 2014). Although a very well-known technology, the biggest disadvantage is the efficiency, which is 10-30% on average.

In Turkey, some regulations were made within the scope of the Regulation on Unlicensed Electricity Production in the Electricity Market (Official Gazette No. 28783 on October 2, 2013) in order to expand small businesses based on renewable energy sources and to encourage small-scale investments. If electricity is to be produced below a certain installed capacity, there is no obligation to obtain a license and establish a company. Thus, consumers will primarily meet their own needs with small-scale investments, and the surplus electricity will be sold to the existing electricity grid. The unlicensed biomass power plant must be under 5MW, as stated in the Electricity Market Article no 6446 (ETKB, 2021).

As of the end of December 2020, the installed power based on biomass energy in Turkey is 1 485 MW, and its share in total electricity generation is 1.8%. There are more than 350 BEPPs, which use different biomass sources as fuel. Solid waste, sludge, agricultural waste, animal manure, and biowastes are common feedstocks. The present study focuses on the BEPPs, which use agricultural residues as fuel. Table 5 shows the installed capacity of some BEPPs (licensed and unlicensed) that use agricultural wastes/residues. The cities which are more industrialized, seem to have BEPPs with high installed capacity. Ankara (28.32 MW), Samsun (27 MW), and Mardin (12 MW) are among the examples.

In Fig. 5 and Fig. 6, the distribution of PR and SR by provinces and the existing biomass power plants are given on the same map. As can be seen from these maps, the number of BEPPs using agricultural wastes is low in regions with high PR potential. It is evident that the current energy potential of the PR is not utilized where the PR is produced. There is a need for production facilities to utilize the current potential of PR, especially in provinces such as Konya and Şanlıurfa, where PR is highly produced. Similarly, the potential of SRs cannot be said to be evaluated in existing BEPPs. It is necessary to establish power generation facilities in or near the provinces where PR and SRs with high energy potential are produced excessively.

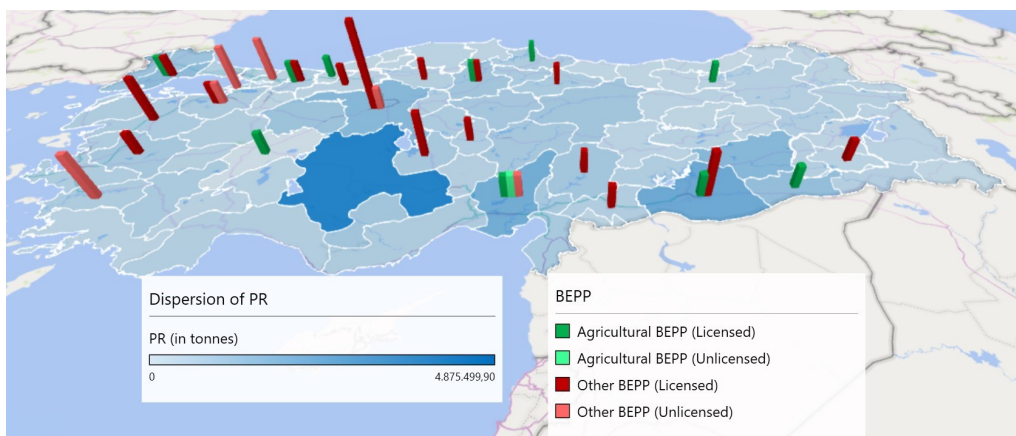


Figure 5. The distribution of PR by provinces and the existing biomass power plants.

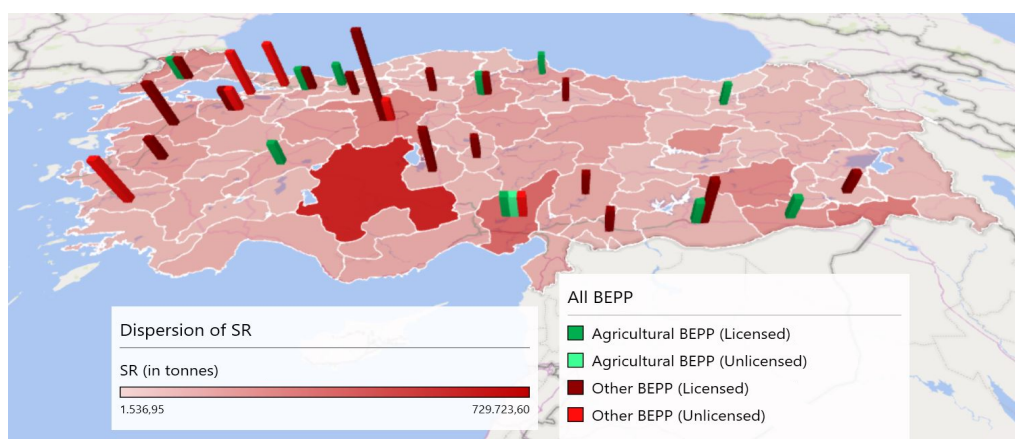


Figure 6. The distribution of SR by provinces and the existing biomass power plants.

Table 5. Installed capacity of some BEPPs that use agricultural wastes/residues

Fuel Type	Facility Name	City	Installed Power (MW)
Corn and Cotton Straw, Citrus waste	Fby BEPP Yuregir	Adana	9.3
Agricultural Residue/Waste	Eber BEPP	Afyonkarahisar	27
Beet Greens, Animal Manure	Aksaray Yapılcan BEPP	Aksaray	1.2
Beet Greens, Animal Manure	Yapılcanlar2 BEPP	Aksaray	1.067
Organic Waste	De Solar 7 BEPP	Ankara	3.201
Solid Waste	Sincan Çadırtepe BEPP	Ankara	28.32
Biowaste	Astosan BEPP	Balıkesir	1.054
Biowaste	Edincik BEPP	Balıkesir	2.134
Hazelnut Shell, Sunflower stalk, Corn Straw, Wood Flour	Bayburt BEPP	Bayburt	1.56
Hazelnut Shell, Sunflower Straw, Corn Straw, And Wood Flour	Çorum-Mecitözü BEPP	Çorum	5
Forest Residue, Hazelnut Shell, Tea Waste and Rice Husk	Düzce BEPP	Düzce	12
Biowastes	Salihli BEPP	Manisa	10
Cotton and Corn Residue	Mavıbayrak Doğu BEPP	Mardin	12
Biowaste	Mevlüt Coşkun BEPP	Nevşehir	2
Biowaste	Karma 1 BEPP	Sakarya	1.487
Agricultural and Forest Residue	Samsun- Çarşamba BEPP	Samsun	27
Plant Residue	Biopir Pıroliz BEPP	Şanlıurfa	3.192
Biowaste	Siirt BEPP	Siirt	1.413
Sludge	Modern BEPP	Tekirdag	6
Biowaste	Cemak BEPP	Tokat	6.15

It is seen that an effective biomass supply chain should be established in order for existing and future BEPPs to make maximum use of agricultural wastes. Because the potential of PR and SR has spread throughout Turkey, only in provinces such as Konya, Adana, Şanlıurfa, the potential is higher than in other provinces. Especially in regions such as Eastern Anatolia, Eastern Black Sea, and Southeastern Anatolia, the biomass energy potential is distributed. In this case, the storage and transport of biomass will be extremely important. This is mainly due to the seasonality of crop residues. In order not to face feedstock shortages or surplus, there should be good planning regarding the storage and transport of biomass. The low bulk density and high moisture content of biomass are major

disadvantages in transport and storage. Pretreating the biomass after harvest is the best option to ease storage and transportation.

Different pretreatments can be applied to densify, dry, and increase the heating value of the biomass. Pretreatment can be either physical (such as baling, loafing, drying, pelleting, and briquetting) or thermochemical (such as torrefaction hydrothermal treatment). Drying is the cheapest and easiest pretreatment. Due to the high moisture content of biomass, drying is the most important pretreatment before any thermochemical conversion process. Drying is intended only for easy and risk-free storage (Akkuş, 2018). Pelleting and briquetting don't change the content of biomass, but those processes ease the transport and storage by compressing the biomass at high pressure. Torrefaction (also called low temperature pyrolysis) is heating the biomass under an inert environment. The main purpose of this process is to obtain a high quality fuel by increasing the heating value while removing the moisture.

There is a reality that biomass -especially the agricultural residues- is a very cheap source. Applying any of the pretreatment increases the cost. To be competitive, the overall cost of the biomass feedstock should be low, which means that the cost of the pretreatment is one of the key criteria in deciding the pretreatment option.

3.3. Analytic hierarchy process

In the present study, Analytic Hierarchy Process (AHP) method was applied to rank the criteria (cost of pretreatment, enhancement in heating value, requirement of size reduction, transport easiness, density enhancement, storage easiness) that affect the selection of pretreatment method by their importance. A questionnaire was prepared in google forms platform and shared with experts (scholars, energy professionals, and energy systems engineers). They are asked to make a pairwise comparison based on their preference ranging from 1 to 9 (1:equal importance, 3: moderate importance, 5: strong importance, 7: very strong importance, 9: extreme importance. 2, 4, 6, and 8: interpolated values) (Ioannou et al., 2018). Scientific papers (30 different papers which were all related to biomass treatment methods) were also evaluated for their preference. The consistency ratio was found as 0.053, which showed that experts' decisions were consistent.

Based on the principal eigenvector of the decision matrix (principal eigen value is 6.333), the resulting weights are given in Table 6. Based on pairwise comparisons, the most important criterion is the cost of pretreatment with 33.6% importance (+/- 11.4 %), which means that the cost of pretreatment is the most important criterion in selecting biomass pretreatment method. Transport easiness takes second place with 27.2% importance (+/- 10.7 %). The third important criterion with 13.4% importance is density enhancement (+/- 4.7 %). Enhancement in heating value and storage easiness have equal importance (11.2%) (+/-3.3% and +/-3.2%, respectively). The least important criterion is a requirement of size reduction (3.5%, +/- 1.6 %).

Table 6. Decision matrix

	Cost of Pretreatment	Enhancement in Heating Value	Requirement of Size Reduction	Transport Easiness	Density Enhancement	Storage Easiness
Cost of Pre-Treatment	1	3	5	2	3	3
Enhancement in Heating Value	0.33	1	5	0.5	0.5	1
Requirement of Size Reduction	0.2	0.2	1	0.167	0.2	0.2
Transport Easiness	0.5	2	6	1	3	4
Density Enhancement	0.333	2	5	0.333	1	1
Storage Easiness	0.333	1	5	0.25	1	1

The results show that investors don't want to pay too much money on pretreatment. If any pretreatment should be done, this should be for making the transport easy. This was an expected result since the agricultural residue itself is a cheap feedstock. Any additional cost will increase the cost of energy production. Selecting a pretreatment that enhances the density is the most important criterion after transport easiness. Baling, loafing, pelleting are the most preferred methods to enhance the bulk density. Enhancing the heating value by using pretreatment (such as torrefaction and hydrothermal drying) is not seen as an important criterion in deciding the pretreatment method. This is expected due to the reason that those methods apply heat, which increases the cost of total energy production. By considering AHP results, the most efficient methods to ease the transport and storage are baling, loafing, pelleting, or briquetting without size reduction.

4. Conclusion

Due to the fact that agricultural areas are large, agricultural products are diverse, and the climate is suitable for agriculture, the amount of waste and residues left over from agricultural activities in Turkey is high. A large amount of these wastes and residues have high energy content. The total amount of PR and SR produced in Turkey is 39 412 683 tonnes and 6 803 787 tonnes, respectively. By assuming the total efficiency of the power plant as 30% and the capacity factor of the biomass power plant as 0.65, the power to be obtained from only PRs in the total of 81 provinces will be 2 438.5 MW, the same for SR will be 830 MW. Konya, Şanlıurfa, Adana, Tekirdağ, Diyarbakır, and Mardin are the provinces that investors should think of installing biomass energy power based on PR and SR. Considering that the installed power based on biomass energy in Turkey by the end of 2020 is 1485 MW, the installed power will triple when only the potentials of the existing PR and SR are used. This will increase the share of biomass power in total electricity generation above 5%.

In power generation from agricultural biomass, it is necessary to pretreat the biomass in order to transport the biomass from agricultural fields to the power station and to store it safely. Although there are many pretreatment methods, the AHP method has shown that cost is the most important criterion in the selection of pretreatment. Investors will prefer the least costly pretreatment method that makes transportation easier. Therefore, pretreatments such as baling, pressing, and pelleting can be recommended for agricultural biomass.

Acknowledgements

This study did not receive any grant from funding agencies.

References

- Acar, S., & Ayanoglu, A. (2012). Determination of higher heating values (HHVs) of biomass fuels. *Energy Education Science and Technology Part A: Energy Science and Research*, 28(2), 749–758.
- Akkuş, G. (2018). Bağ Budama Artıklarından Torrefaksiyon İle Katı Atık Üretimi. (MSc). Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Aqsha, A., Tijani, M. M., & Mahinpey, N. (2014). Catalytic pyrolysis of straw biomasses (wheat, flax, oat and barley straw) and the comparison of their product yields. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*, 190 Volume, 1007–1015.
- Avcıoğlu, A. O., Dayıoğlu, M. A., & Türker, U. (2019). Assessment of the energy potential of agricultural biomass residues in turkey. *Renewable Energy*, 138, 610–619.
- Bai, X., Wang, G., Gong, C., Yu, Y., Liu, W., & Wang, D. (2017). co-pelletizing characteristics of torrefied wheat straw with peanut shell. *Bioresource Technology*, 233, 373–381.
- Bajwa, D. S., Peterson, T., Sharma, N., Shojaeiarani, J., & Bajwa, S. G. (2018). a review of densified solid biomass for energy production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 96, 296–305.
- Bilgiç, E. (2014). The comparison of effects of torrefaction and carbonization treatments on biomass. (MSc). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Biswas, B., Pandey, N., Bisht, Y., Singh, R., Kumar, J., & Bhaskar, T. (2017). pyrolysis of agricultural biomass residues: Comparative study of corn cob, wheat straw, rice straw and rice husk. *Bioresource Technology*, 237, 57–63.

- Brunelli, M. 2015. Introduction to the analytic hierarchy process, Springer, ISBN:978-3-319-12502-2
- Cergibozan, R. (2022). Renewable energy sources as a solution for energy security risk: Empirical evidence from OECD countries. *Renewable Energy*, 183, 617-626.
- Danish, M., Naqvi, M., Farooq, U., & Naqvi, S. (2015). characterization of south Asian agricultural residues for potential utilization in future 'Energy Mix.'. *Energy Procedia*, 75, 2974-2980.
- Demirbas, A. (2016). Calculation of higher heating values of biomass fuels. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 38(18), 2693-2697.
- Estiati, I., Freire, F. B., Freire, J. T., Aguado, R., & Olazar, M. (2016). Fitting performance of artificial neural networks and empirical correlations to estimate higher heating values of biomass. *Fuel*, 180, 377-383.
- ETKB. (2021). <https://enerji.gov.tr/>
- Fornés Comas, J., Socias i Company, R., & Alonso Segura, J. M. (2019). Shell hardness in almond: cracking load and kernel percentage. *Scientia Horticulturae*, 245(June 2018), 7-11.
- García, R., Pizarro, C., Lavín, A. G., & Bueno, J. L. (2014). Spanish biofuels heating value estimation. Part I: Ultimate Analysis Data. *Fuel*, 117 (PARTB), 1130-1138.
- Gebreegziabher, T., Oyedun, A. O., Luk, H. T., Lam, T. Y. G., Zhang, Y., & Hui, C. W. (2014). Design and optimization of biomass power plant. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(8), 1412-1427.
- Havrysh, V., Kalinichenko, A., Brzozowska, A., & Stebila, J. (2021). Life cycle energy consumption and carbon dioxide emissions of agricultural residue feedstock for bioenergy. *Applied Sciences*, 11(5), 2009.
- Ioannidou, S.M., Pateraki, C., Ladakis, D., Papapostolou, H., Tsakona, M., Vlysidis, A., Kookos, I.K., Koustinas, A. (2020). Sustainable production of bio-based chemicals and polymers via integrated biomass refining and bioprocessing in a circular bioeconomy context. *Bioresource Technology*, 307, 123093.
- Ioannou, H., Tsantopoulos, G., Arabatzis, G., Andreopoulou, Z., Zafeiriou, E. (2018). A spatial decision support system framework for the evaluation of biomass energy production locations: Case study in the regional unit of Drama, Greece. *Sustainability*, 10, 531.
- Jiang, Y., Havrysh, V., Klymchuk, O., Nitsenko, V., Balezentis, T., & Streimikiene, D. (2019). Utilization of crop residue for power generation: The case of Ukraine. *Sustainability*, 11(24), 1-21.
- Khdair, A., & Abu-Rumman, G. (2020). Sustainable environmental management and valorization options for olive mill byproducts in the Middle East and North Africa (MENA) region. *Processes*, 8(6), 1-22.
- Moayed, H., Aghel, B., Abdullahi, M. M., Nguyen, H., & Safuan A Rashid, A. (2019). Applications of rice husk ash as green and sustainable biomass. *Journal of Cleaner Production*, 237, 117851.
- Mohammed, I. Y., Abakr, Y. A., Musa, M., Yusup, S., Singh, A., & Kazi, F. K. (2016). Valorization of bambara groundnut shell via intermediate pyrolysis: Products Distribution and Characterization. *Journal of Cleaner Production*, 139, 717-728.
- Montero, G., Coronado, M. A., Torres, R., Jaramillo, B. E., García, C., Stoytcheva, M., Vázquez, A. M., León, J. A., Lambert, A. A., & Valenzuela, E. (2016). Higher heating value determination of wheat straw from Baja California, Mexico. *Energy*, 109, 612-619.
- Morato, T., Vaezi, M., & Kumar, A. (2019). Assessment of energy production potential from agricultural residues in Bolivia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 102(October 2018), 14-23.
- Murele, O. C., Zulkafli, N. I., Kopanos, G., Hart, P., & Hanak, D. P. (2020). Integrating biomass into energy supply chain networks. *Journal of Cleaner Production*, 248.
- Nhuchhen, D. R., & Abdul Salam, P. (2012). Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: A New Approach. *Fuel*, 99, 55-63.
- Nunes, L. J. R., Causer, T. P., & Ciolkosz, D. (2020). Biomass for energy: A Review on supply chain management models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 120, 1-8.
- Ozturk, M., Saba, N., Altay, V., Iqbal, R., Hakeem, K.R., Jawaid, M., Ibrahim, F.H. (2017). Biomass and bioenergy: An overview of the development potential in Turkey and Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 1285-1302.

- Paletto, A., Bernardi, S., Pieratti, E., Teston, F., Romagnoli, M. (2019). Assessment of environmental impact of biomass power plants to increase the social acceptance of renewable energy technologies. *Heliyon*, 5, e02070.
- Patsios, S. I., Kontogiannopoulos, K. N., Mitrouli, S. T., Plakas, K. V., & Karabelas, A. J. Characterisation of Agricultural Waste Co-and by-Products; AgroCycle Project. 2016. Available from: http://www.agrocycle.eu/files/2017/10/D1.2_AgroCycle.pdf, Accessed date: 05 May 2021
- Perea-Moreno, M. A., Manzano-Agugliaro, F., & Perea-Moreno, A. J. (2018). Sustainable energy based on sunflower seed husk boiler for residential buildings. *Sustainability (Switzerland)*, 10(10).
- Polat, M. (2020). Türkiye'nin Tarımsal Atık Biyokütle Enerji Potansiyelindeki Değişim. *Toprak Su Dergisi*, 19–24.
- Poudel, J., & Oh, S. C. (2014). Effect of torrefaction on the properties of corn stalk to enhance solid fuel qualities. *Energies*, 7(9), 5586–5600.
- Qian, H., Zhu, W., Fan, S., Liu, C., Lu, X., Wang, Z., Huang, D., & Chen, W. (2017). Prediction models for chemical exergy of biomass on dry basis from ultimate analysis using available electron concepts. *Energy*, 131, 251–258.
- Rentizelas, A.A., Tolis, A.J., Tatsiopoulos, I.P. (2009). Logistics issues of biomass: The storage problem and the multi-biomass supply chain. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13, 887-894.
- Ríos-Badrán, I. M., Luzardo-Ocampo, I., García-Trejo, J. F., Santos-Cruz, J., & Gutiérrez-Antonio, C. (2020). Production and characterization of fuel pellets from rice husk and wheat straw. *Renewable Energy*, 145, 500–507.
- Santos, J., Ouadi, M., Jahangiri, H., & Hornung, A. (2019). Integrated intermediate catalytic pyrolysis of wheat husk. *Food and Bioproducts Processing*, 114, 23–30.
- Tang, C., Zhang, D., & Lu, X. (2015). Improving the yield and quality of tar during co-pyrolysis of coal and cotton stalk. *BioResources*, 10(4), 7667–7680.
- Thanarak, P. (2012). Supply chain management of agricultural waste for biomass utilization and CO₂ emission reduction in the lower Northern Region of Thailand. 14, 843–848.
- Wang, L., Skreiberg, Ø., Becidan, M., & Li, H. (2016). Investigation of rye straw ash sintering characteristics and the effect of additives. *Applied Energy*, 162, 1195–1204.
- Werther, J., Saenger, M., Hartge, E.U., Ogada, T., Siagi, Z. (2000). Combustion of agricultural residues. *Progress in Energy and Combustion Science*, 26, 1-27.
- Yang, T., Ma, J., Kai, X., Li, R., & Ding, J. (2016). Ash Transformation and deposition characteristic during straw combustion, *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 38(6), 790–796.
- Yao, X., Xu, K., Yan, F., & Liang, Y. (2017). The influence of ashing temperature on ash fouling and slagging characteristics during combustion of biomass fuels. *Bio Resources*, 12(1), 1593–1610.
- Zhao, C., Liu, X., Chen, A., Chen, J., Lv, W., & Liu, X. (2020). Characteristics evaluation of bio-char produced by pyrolysis from waste hazelnut shell at various temperatures. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 1–11.
- Zhou, H., Luo, Z., Liu, D., & Ma, W. C. (2019). Effect of biomass ashes on sintering characteristics of high/low melting bituminous coal ash. *Fuel Processing Technology*, 189(January), 62–73.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Identification and Pathogenicity of *Neoscytalidium novaehollandiae*, the Agent of Canker and Dieback in Almonds and *In Vitro* Activities of Some Fungicides

Nedim SAKÇI¹, Şener KURT² Aysun UYSAL^{*3}, E. Mine SOYLU⁴, Merve KARA⁵
Soner SOYLU⁶

¹Republic of Türkiye Ministry of Agriculture and Forestry, Batman Directorate of Provincial Agriculture and Forestry, 72070, Batman

^{2,3,4}Hatay Mustafa Kemal University, Centre for Implementation and Research of Plant Health Clinic, Antakya, Hatay

^{2,4,5,6}Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, 31060, Antakya, Hatay

¹<https://orcid.org/0000-0001-8896-8021>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4545-5968>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9067-285X>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-5961-0848>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-7320-3376>, ⁶<https://orcid.org/0000-0003-1002-8958>

*Corresponding author e-mail: aysunuysal31@gmail.com, aysun.uysal@mku.edu.tr

Article Info

Received: 07.07.2021

Accepted: 11.01.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.964030

Keywords

Almond,
Fungicide,
Dieback,
Canker,
*Neoscytalidium
novaehollandiae*

Abstract: The objective of the present study is to identify the causal agents associated with cancer and dieback symptoms in almond production areas in Batman's Binatlı village, to determine the pathogenicity of the causal agent, and to determine the efficacy of some fungicides on the pathogen *in vitro*. As a result of the morphological and molecular characterization of fungal isolates obtained from diseased plant tissues, the fungus was identified as *Neoscytalidium novaehollandiae*. In the pathogenicity test of 5 isolates of *N. novaehollandiae* on almond seedlings cv Ferragnes, AlNnov79 was determined as the most virulent isolate. As a result of the efficacy trial of five different fungicides on *N. novaehollandiae* isolate AlNnov79, highly effective fungicides were determined as fluazinam (EC50;0.002 µl ml⁻¹), thiophanate-methyl (EC50;0.3 µl ml⁻¹), tebuconazole (EC50;0.4 µl ml⁻¹), boscalid + pyraclostrobin (EC50;2.2 µl ml⁻¹). Trifloxystrobin (EC50;19.5 µl ml⁻¹) was found as the lowest effective fungicide.

To Cite: Sakci N, Kurt S, Uysal A, Soylu E M, Kara M, Soylu S, 2022. Identification and Pathogenicity of *Neoscytalidium novaehollandiae*, the Agent of Canker and Dieback in Almonds and *In Vitro* Activities of Some Fungicides. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 132-142. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.964030>

Bademde Kanser ve Geriye Doğru Ölüm Etmeni *Neoscytalidium novaehollandiae*'nın Tanılanması, Patojenisitesi ve Bazı Fungisitlerin *In Vitro* Etkinlikleri

Makale Bilgileri

Geliş: 07.07.2021

Kabul: 11.01.2022

Online yayınlama: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.964030

Öz: Bu çalışmanın amacı, Batman'ın Binatlı köyündeki badem üretim alanlarında görülen kanser ve geriye doğru ölüm belirtilerine neden olan hastalık etmeninin tanısını yapmak, etmenin patojenisitesini belirlemek ve *in vitro* koşullarda bazı fungusitlerin patojene karşı etkinliğini saptamaktır. Hastalıklı bitki dokularından elde edilen fungal izolatlar, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu sonucunda fungus, *Neoscytalidium novaehollandiae* olarak tanılanmıştır. *N. novaehollandiae*'nin 5 izolat ile Ferragnes çeşidi badem fidanlarında yapılan patojenisite testinde AlNnov79, en virulent izolat olarak

Anahtar Kelimeler

Badem,
Fungisit,
Geriye doğru ölüm,
Kanser,
Neoscytalidium
novaehollandiae

belirlenmiştir. *N. novaehollandiae*'nın AINnov79 izolatına karşı beş farklı fungisit'in etkinlik denemesi sonucunda en etkili fungisitler; fluazinam (EC50;0.002 µl/ml), thiophanate-methyl (EC50;0.3 µl/ml), tebuconazole (EC50;0.4 µl/ml), boscalid + pyraclostrobin (EC50;2.2 µl/ml), olarak belirlenmiştir. Etkinliği en düşük fungisit ise trifloxystrobin (EC50;19.5 µl/ml) olarak bulunmuştur.

1. Giriş

Badem (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb), orta ve güneybatı Asya'ya özgü bir meyve türü olup, günümüzde ABD, Güney Afrika, Avustralya, Güney Amerika ve birçok Akdeniz ülkesinde yetiştirilmektedir (Gramaje ve ark., 2012; Eldoğan ve ark., 2014). Ülkeler itibarıyla dünya badem üretiminde, % 57.2 ile ABD ilk sırada yer alırken, ülkemiz %3.8'lik bir oran ile 5. sırada bulunmakta ve üretim yıllık yaklaşık 160 bin tondur (FAO, 2020). Badem ağaçları, yetiştiricilik sırasında ciddi verim kayıplarına sebep olan birçok fungal hastalıklardan etkilenmektedir. Bunlar içerisinde, ağaçlarda sürgün yanıklığı, geriye doğru ölüm, gövde kanserleri, meyve çürüklükleri ve sakızlanma gibi farklı belirtilerden sorumlu fungal patojenlerin yol açtığı hastalıklar, badem üretimini sınırlayan en önemli faktörlerden birisidir. Son yıllarda Batman ilinde badem üretim alanlarının giderek artış göstermesi ile birlikte yetiştiriciler tarafından dallarda ölüm, sürgün ve gövdelerde lezyonlar, yapraklarda ani solma, sararma, yaprak ölümü ve gövde kanseri ile zank akıntısı şeklinde farklı belirtiler gözlenmeye başlanmıştır. Özellikle ağaçların gövde dokularında ortaya çıkan kanser belirtilerinin, esas olarak kışın odunsu bitkilerin budama yaralarından girerek iletim dokularını kolonize eden ve taksonomik olarak birbiri ile yakın ilişkili olmayan geniş bir patojen grubu tarafından oluşturulduğu kaydedilmektedir (Slippers ve Wingfield, 2007; Slippers ve ark., 2013). Ayrıca söz konusu tür ve tür karmaşalarının birçoğu, son 10 yıl içerisinde belirgin taksonomik değişikliklerden dolayı yeniden adlandırılmıştır. Bu bağlamda, 9 familya, 33 cins ve 279 türden oluşan Botryosphaerales takımında (Phillips ve ark., 2013; Slippers ve ark., 2013; Dissanayake ve ark., 2017) en geniş familya olan Botryosphaeriaceae içerisinde, 24 farklı cinse ait 222 tür kaydedilmiştir. Botryosphaeriaceae familyasında yer alan fungal türlerin neden olduğu kanserler, birçok meyve türünde önemli bir yetiştiricilik sorunu olarak kabul edilmekte ve odunsu bitki türlerinde saprofitik, endofitik veya patojenik olarak değerlendirilmektedir (Slippers ve Wingfield, 2007; Phillips ve ark., 2013; Slippers ve ark., 2013).

Botryosphaeriaceae familyasında yer alan *Botryosphaeria*, *Diplodia*, *Dothiorella*, *Lasioidiplodia*, *Macrophomina*, *Neofusicoccum* ve *Neoscytalidium* cinsine ait en az 14 türün, badem ağaçlarında söz konusu hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Ray ve ark. 2010; Inderbitzin ve ark., 2010; Lynch ve ark., 2013; Kayım ve ark., 2015; Nouri ve ark., 2019; Moral ve ark., 2019; Gusella ve ark., 2021). Bunlardan *Neoscytalidium* cinsine bağlı *dimidiatum* ve *novaehollandiae* türlerinin, oldukça fazla konukçu dizisine ve geniş bir coğrafik dağılıma sahip olduğu ve ülkemizde sert kabuklu meyve ağaçlarından badem (Ören ve ark., 2020), antepfıstığı (Kurt ve ark. 2019; Dervis ve ark., 2019a) ve ceviz (Dervis ve ark., 2019b) gibi türlerde hastalık oluşturduğu tespit edilmiştir. Botryosphaeriaceae familyası içerisinde yer alan bitki patojeni funguslar, yaygın olarak eşeysiz formdaki morfolojik karakterlere göre tanılanmaktadır. Hızlı ve ucuz olan bu yöntem, fungal taksonomide karışıklıklara yol açmıştır (Inderbitzin ve ark., 2010; Nouri ve ark., 2018; Toker Demiray ve Akçalı, 2020). Bu nedenle, genellikle Botryosphaeriaceae türlerini tanımlamak için benimsenen eşeysiz yapıya dayalı morfoloji çalışmaları, birbiri ile yakından ilişkili türlerin çözümünde başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek için DNA tabanlı filogenetik analizler, daha güvenilir bir tür tanımlama yöntemi olarak ön plana çıkmıştır. Sonuç olarak, Botryosphaeriaceae familyasında son yıllarda morfolojik karakterizasyon ile birlikte moleküler verilere dayalı olarak birçok yeni tür tanımlanmıştır (Slipper ve ark., 2013; Nouri ve ark., 2018; Kurt ve ark., 2020). Bu türlerin oluşturduğu hastalıkların kontrolünde en etkili yöntemlerden birisi kimyasal savaş olarak ifade edilmektedir (Moral ve ark., 2019). Türkiye'de bu hastalığa karşı ruhsatlı fungisit bulunmamaktadır. Bundan yola çıkarak bu çalışmanın amacı, bölgede yetiştiriciliği yapılan badem ağaçlarında kanser ve geriye doğru ölümlere neden olan hastalık etmeninin morfolojik ve moleküler metotlara dayanarak tanılanması, virülenslik düzeyinin belirlenmesi ve bazı fungisitlerin patojene karşı *in vitro* etkinliğinin belirlenmesidir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Sörvey ve hastalık etmeninin izolasyonu

Batman ilinin merkez ilçesine bağlı Binatlı köyünde (37°80.47N, 41°20.68E) badem yetiştiriciliği yapılan 4 farklı bahçede sörveyler gerçekleştirilmiştir. Ferragnes ve yerli çeşitlerin yetiştiriciliği yapılan ortalama 100 dekar alandan örneklemeler yapılmıştır. Tesadüfi örneklemeye göre kanser, kısmi dal kurumaları, yaprak ve sürgünlerde lezyonlar gözlenen ağaçlardan alınan hastalıklı bitki örnekleri plastik torbalara konularak laboratuvara getirilmiştir. Fungal izolasyonlar için alınan bitkiler, akan çeşme suyu altında yıkandıktan sonra enfeksiyonlu ve sağlıklı dokuları içerecek şekilde 5-6 cm büyüklüğünde parçalara ayrılarak %70'lik etanol içerisinde 2 dakika dezenfekte edilmiş ve daha sonra saf su ile durulama işlemleri yapılarak kurutma kağıtları içerisinde kurumaya bırakılmıştır. Yüzeiden dezenfekte edilmiş hastalıklı bitki dokuları, Patates Dekstroz Agar (PDA) besi yeri içeren 90 mm çapındaki Petri kaplarına transfer edilmiştir. Ekim yapılan Petri kapları, 26°C'lik inkübatörde karanlıkta 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Tüm koloniler, PDA besi yerinde alt kültüre alınmıştır. Bu süre sonucunda gelişen fungal kolonilerden saflaştırma yapılmış ve bu kolonilerden tek spor izolasyonu yapılarak diğer çalışmalarda kullanılmak üzere %15'lik gliserol solüsyonu içeren tüpler içinde buzdolabında saklanmıştır.

2.2. Hastalık etmeninin morfolojik karakterizasyonu

Fungal izolatların koloni morfolojisi (miselyal gelişim hızı, şekli ve rengi), konidi şekil ve boyutlarını esas alarak kültürler, PDA besi yerinde geliştirilmiş ve karakteristik özellikleri yönünden değerlendirilmiştir. Konidi şekil ve boyutları, trinoküler araştırma mikroskopu (NIKON Eclipse, Floresan ve DIC Ataçmanlı) kullanılarak fotoğraflanmış ve ölçümleri kayıt altına alınmıştır. Ayrıca morfo-kültürel çalışmalar kapsamında temsili seçilen bir izolat, 8 farklı sıcaklıkta (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 °C) ve 5 farklı besi ortamında [PDA, su agarı (WA), V8 juice agar, malt ekstrakt agar (MEA) ve czapek-dox agar (CDA)], 90 mm çapında petri kaplarında 3 tekrarlı olarak değerlendirmeye alınmıştır.

2.3. Hastalık etmeninin moleküler karakterizasyonu

Morfo-kültürel çalışmalar sonucunda cins düzeyinde teşhisi yapılan fungal izolatların kesin tür tanımlarının yapılması için öncelikle genomik DNA izolasyonları yapılmıştır. Bu kapsamda fungal kültürlerin misellerinden 100 mg alınarak parçalanmıştır. Bu işlemden sonra, DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, GeneMark Teknoloji Co, Valencia, CA, Katalog No. 69104) kullanarak üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Uysal ve ark. 2021). PCR çalışmaları, internal transcribed spacers (ITS) rDNA bölgesi ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ve ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') primer çifti (White ve ark., 1990) ile translation elongation factor (TEF1- α) gen bölgesi 728F (5'-CATCGAGAAGTTCGGAAGG-3') ve 986R (5'- TACTTGAAGGAACCCTTACC-3') primer çifti (Carbone ve Kohn 1999) kullanılarak sürdürülmüştür. DNA amplifikasyonu, 5 μ l 10 \times enzim buffer, 10 mM dNTP, 50mM MgCl₂, 0.5 μ l primer, 0.2 μ l Taq DNA polimeraz ve 2 μ l DNA ile toplam 50 μ l olacak şekilde ve PCR koşulları 94°C'de 3 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 1 dk. denatürasyon, annealing sıcaklığı EF için 57 °C, ITS için 55 °C, 72 °C'de 35 sn. ve final adımı olarak 72 °C'de 10 dk olarak ayarlanmıştır. DNA bant kalitesine göre seçilen izolatın DNA dizileme işlemleri, özel bir firmadan (MEDSANTEK, İstanbul) hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. DNA nükleotid dizileri, NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanı ile BLAST yapılarak türlerin Genbank erişim numarası alındıktan sonra tanımlama işlemi tamamlanmıştır.

2.4. Patojenisite çalışmaları

PDA besi yerinde 5 gün boyunca geliştirilmiş 5 fungal izolatın virülenslik düzeyini belirlemek için, Ferragnes çeşidi 2 yaşındaki badem fidanları kullanılmıştır. Bu amaçla, her bir izolat için, steril bir bistüri kullanılarak her bir dalın üzerinde 5 farklı noktadan açılan yara ile 3'er bitki inokule edilmiştir. Bunun için PDA'da aktif olarak gelişen kolonilerin kenarından alınan 5 mm çapındaki miselyal diskler, her bitkide açılan yara yerlerine agar kısmı alta gelecek şekilde yerleştirilerek, Parafilm® (American

National Can, Chicago, IL, USA) ile kapatılmıştır. Eşdeğer sayıda bitki ve yara yeri, steril PDA diskleri ile inokule edilmiş ve bunlar kontrol olarak değerlendirilmiştir (Nouri ve ark., 2018; Ören ve ark., 2020; Hosseinalizadeh ve ark., 2021). Hastalık etmeni içeren ve içermeyen (kontrol) agar disklerle inokule edilen bitkiler, kontrollü sera koşullarında gelişmeye bırakılmış ve inokulasyondan 60 gün sonra tüm bitkiler değerlendirmeye alınmıştır. Bu aşamada uygulama yapılan dallar kesilmiş ve kabuk altında dokuda herhangi bir renk değişikliğini incelemek için kabuk soyulmuştur. Enfeksiyon gözlenen dal veya sürgün dokularında lezyon uzunlukları (mm) ölçülerek virülenslik düzeyleri ortaya konmuştur. Bu lezyonlu alanlardan PDA ortamında geriye izolasyonu yapılarak Koch postulatı işlemi tamamlanmıştır.

2.5. Bazı fungusitlerin fungal patojenin miselyal gelişimini üzerine *In vitro* biyoetkinlikleri

Morfolojik ve moleküler olarak tanısı yapılan ve virülenslik düzeyi belirlenen patojen izolatin Çizelge 1’ de özellikleri verilen fungusitlere karşı etkinliği *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Bu amaçla, seçilen bazı fungusitlerin fungal patojenin miselyal gelişimine biyoetkinliğini ortaya koymak için, patojenisite denemesinde virülenslik düzeyi en yüksek seviyede olduğu belirlenen AIN79 izolatu kullanılmıştır.

Çizelge 1. Fungal patojenin miselyal gelişimini üzerine *In vitro* koşullarda biyoetkinlik denemelerinde kullanılan fungusitlerin bazı özellikleri

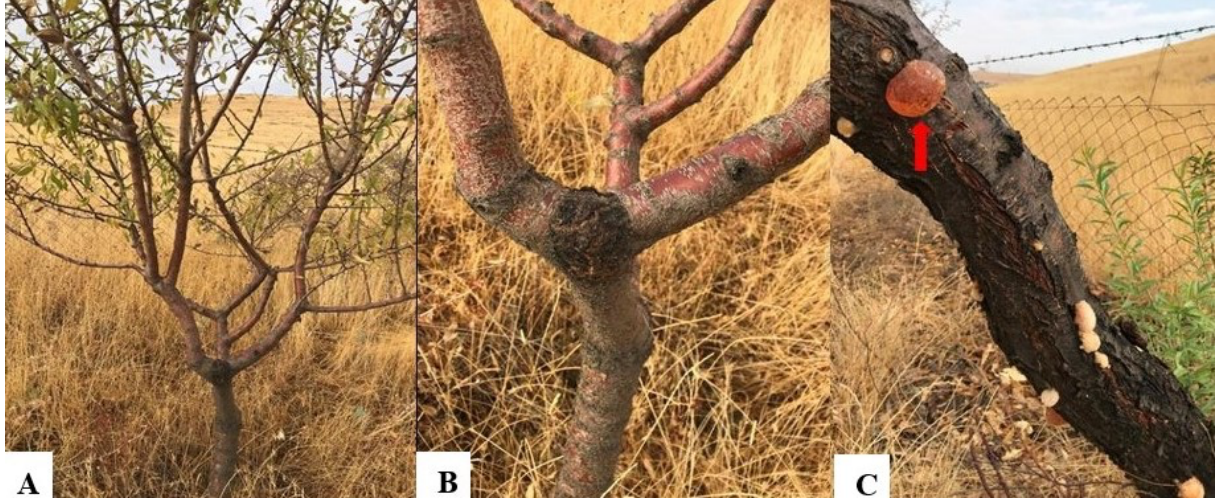
Etken Madde ve Oranı	Ticari İsmi	Firma	Formülasyon
Trifloxystrobin (%50)	Tugart	Güner	WG
Tebuconazole (%25)	Folicur	Bayer Crop Science	WP
Thiophanate-methyl (%70)	Sumitop	Sumi Agro	WP
Fluazinam (500 g/l)	Nando	Nufarm	SC
Boscalid+ pyraclostrobin (%26.7+%6.7)	Signum	BASF	WG

Çalışmada kullanılan fungusitlerin fungal etmenin miselyal gelişimi üzerine etkinlikleri, her bir fungusitin farklı konsantrasyonlarını (trifloxystrobin: 5.0, 10.0, 25.0, 50.0, 100 µg/ml; tebuconazole: 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 µg/ml; thiophanate methyl: 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 µg/ml; fluazinam: 0.001, 0.003, 0.005, 0.007, 0.01 µg/ml; boscalid + pyraclostrobin: 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 µg/ml) kullanarak belirlenmiştir. Her bir fungusitin belirlenen konsantrasyonları, 50°C’ye kadar soğutulan steril PDA ortamına karıştırılıp 90 mm’lik Petri kaplarına aktarılmıştır. Kontrol olarak herhangi bir fungusit içermeyen PDA besi yeri kullanılmıştır. Fungisit içeren PDA besi yerlerine, 5 günlük AIN79 izolatına ait fungal kültürden 5mm çapında diskler alınarak yerleştirilmiştir. Fungisit içeren ve kontrol Petri kapları, 25°C’de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonucunda miselyal gelişimin radyal ölçümleri alınarak fungusitlerin etki düzeyleri (%) belirlenmiştir (Uysal ve Kurt, 2019). Denemeler, Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre her bir konsantrasyon için 3 tekrar ve her bir tekrarda besi yeri içeren 1 Petri kabı olacak şekilde kurulmuştur. Her bir fungusitin farklı konsantrasyonlarındaki etkinlikleri, Abbott formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Misel gelişimini %50 düzeyinde engelleyen etkili konsantrasyon (EC₅₀) değerleri, SPSS istatistik programında (Versiyon 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) Probit analizi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular

3.1. Sörvey ve hastalık etmeninin izolasyonu

Çalışmanın yürütüldüğü Batman iline bağlı Binatlı köyünde badem yetiştiriciliği yapılan 4 farklı bahçeden 25 adet hastalıklı bitki örnekleri alınmıştır. Örnekleme yapılan bahçelerdeki ağaçların yapraklarında sararma, deformasyon, solgunluk, geriye doğru ölüm belirtileri ve gövdelerde zamk akıntıları gözlenmiştir (Şekil 1).

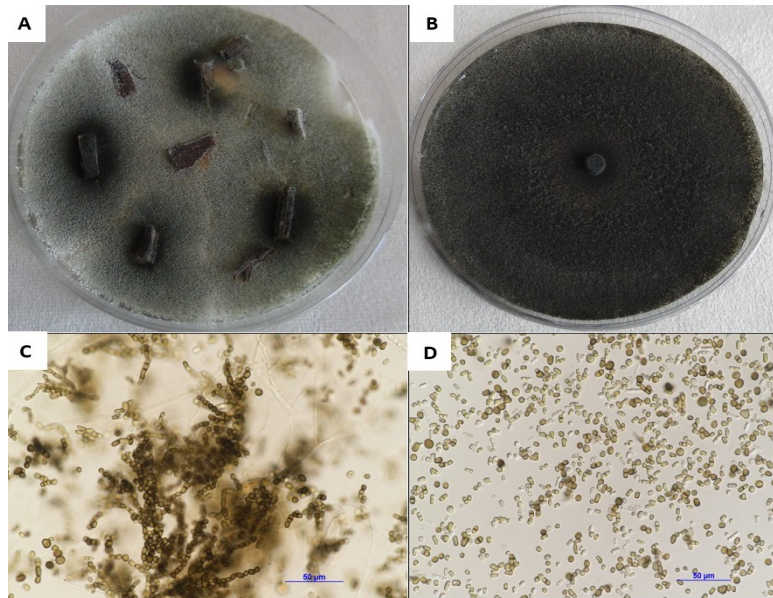


Şekil 1. Batman ilindeki badem ağaçlarında yaprak, dal, sürgün ve gövdelerde görülen solma, sararma, yaprak dökümü (A) ve zamk akıntılı gövde kanseri (B, C) belirtileri

Bu örneklerden yapılan hastalık izolasyonları sonucunda PDA ortamındaki kültürel ve morfolojik gelişimlerini esas alarak elde edilen 5 farklı fungal izolatın (AIN33, AIN48, AIN62, AIN72, AIN79), Botryosphaeriaceae familyasına ait bir fungus türü olduğu belirlenmiştir. Diğer bazı örnekler, benzer belirtiler vermesine karşılık bunlardan herhangi bir fungal etmen izole edilememiştir.

3.2. Hastalık etmeninin morfolojik karakterizasyonu

Hastalıklı bitkilerden elde edilen izolatlar, öncelikle PDA besi yerindeki gelişme özellikleri dikkate alınarak morfolojik olarak karakterize edilmiştir. PDA besi yerinde koloni gelişimi, inkübasyonun 2. gününde beyaz renkli olup daha sonra koyu yeşil ve 1 hafta içerisinde koyu siyah bir renge dönüşmüştür (Şekil 2).



Şekil 2. *Neoscytalidium novaehollandiae*'nin hasta bitki doku parçalarından izolasyon sonucu gelişimi (A), saf AIN79 izolatının PDA besi yerinde 7 günlük miselyal gelişimi (B), *N. novaehollandiae* ait tipik konidiler (C, D).

Bu kolonilerde gelişen arthrokonidilerin, bölmesiz ya da tek bölmeli, kalın duvarlı, kahverengi ve dairesel, oval veya silindirik, 6.2 – 10.1 x 2.4–3.8 µm boyutlarında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2). Bu morfolojik ve kültürel karakteristik özelliklere göre 5 izolatın, *Neoscytalidium* cinsine bağlı fungus

türü olduğuna karar verilmiştir. Ayrıca bu aşamada temsili olarak fungal etmene ait AIN79 izolatının, morfo-kültürel çalışmaları kapsamında, 5 farklı besi yerinde ve 8 farklı sıcaklık koşullarında yapılan denemeleri sonucunda, 25-35 °C' de ve tüm besi ortamlarında 7 gün sonra tam gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Besi yerleri açısından ise miselyal gelişim, MEA ortamında en iyi seviyede olurken, WA ortamında zayıf olarak kaydedilmiştir. En düşük sıcaklık (5 °C) ve en yüksek sıcaklıkta (40 °C) koşullarında hiçbir miselyal gelişim gözlenmemiştir (Çizelge 2).

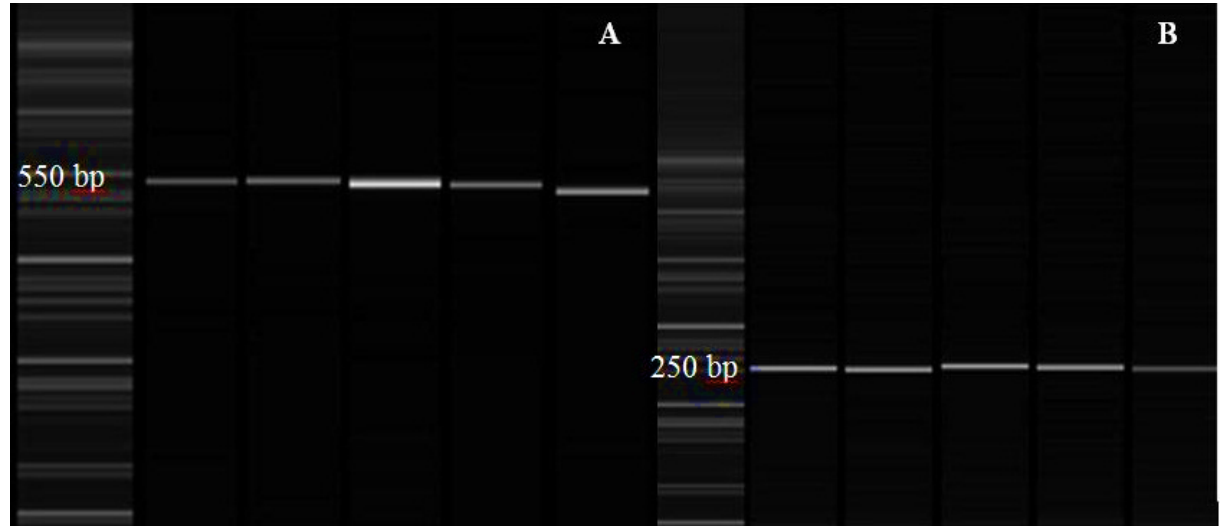
Çizelge 2. *Neoscytalidium* cinsine ait AIN79 izolatının, farklı sıcaklık ve besi yerlerindeki miselyal gelişimleri (mm)

Sıcaklık (°C)	Besi yerleri				
	PDA	V8	CDA	WA	MEA
5	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA
10	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA	0.0±0.0aA
15	25.7±2.0bD	24.0±2.1bC	6.3±1.7bA	16.3±1.3bB	21.7±2.0bC
20	63.7±0.7cC	80.0±0.0dD	32.7±0.8cB	16.3±1.7bA	80.0±0.0dD
25	80.0±0.0eB	80.0±0.0dB	80.0±0.0eB	66.0±1.0cA	80.0±0.0dB
30	80.0±0.0eB	80.0±0.0dB	80.0±0.0eB	75.0±1.7dA	80.0±0.0dB
35	80.0±0.0eB	80.0±0.0dB	80.0±0.0eB	56.0±0.6cA	80.0±0.0dB
40	74.7±0.3dD	73.0±0.6cC	44.3±0.6dB	24.0±0.3bA	73.7±0.3cC

PDA: Patates Dektroz Agar, CDA: Czapek Dox Agar, MEA: Malt Extract Agar, V8: V8 Juice Agar, WA: Water Agar. *Satır ve sütun içinde yer alan ortalama koloni çaplarının (mm ±S.D) yanındaki sırasıyla aynı sütunda farklı küçük ve aynı satırda farklı büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine ($p \leq 0,05$) göre istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir.

3.3. Hastalık etmeninin moleküler karakterizasyonu

Morfolojik çalışmalar sonucunda belirlenen *Neoscytalidium* fungusuna ait izolatlardan, (jeldeki bant sırasına göre; AIN48, AIN72 AIN79, AIN33, AIN62) 25-30 ng/μl miktarında genomik DNA izole edilmiştir. ITS (ITS-4- ve ITS-5) ve EF (728F ve 986R) primerlerini kullanarak PCR çalışmaları sonucunda sırasıyla 550 bp ve 250 bp büyüklüğünde DNA bantları elde edilmiştir. Buradan seçilen temsili AIN79 izolatı için dizi analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. *Neoscytalidium novaehollandiae*'nin farklı izolatlarının ITS (A) ve EF (B) gen bölgelerine göre bant büyüklükleri (bp).

Dizi analizi sonucu nükleotidler, NCBI veritabanında BLAST yapılmış ve GenBank veri tabanında *Neoscytalidium novaehollandiae* izolatı (ITS ve EF gen bölgeleri için erişim numaraları, sırasıyla MK530201 ve MN990035) ile %99-100 benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Daha sonra morfo-kültürel ve moleküler çalışmaları sonucunda kesin teşhisi yapılan *N. novaehollandiae* fungusu, AIN79 izolat adı ve ITS: MZ148589 ve EF: MZ151354 erişim numaraları ile NCBI GenBank veri

tabanına kaydedilmiştir. Moleküler analizlerde bant büyüklüklerine göre, diğer 4 izolata da *N. novaehollandiae* fungusu olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak hastalık etmeninin morfo-kültürel karakteristik özelliklerini ve moleküler filogenetik analizlerini esas alarak fungal etmen, *Neoscytalidium novaehollandiae* Pavlic, T.I. Burgess & M.J. Wingf., olarak tanımlanmıştır.

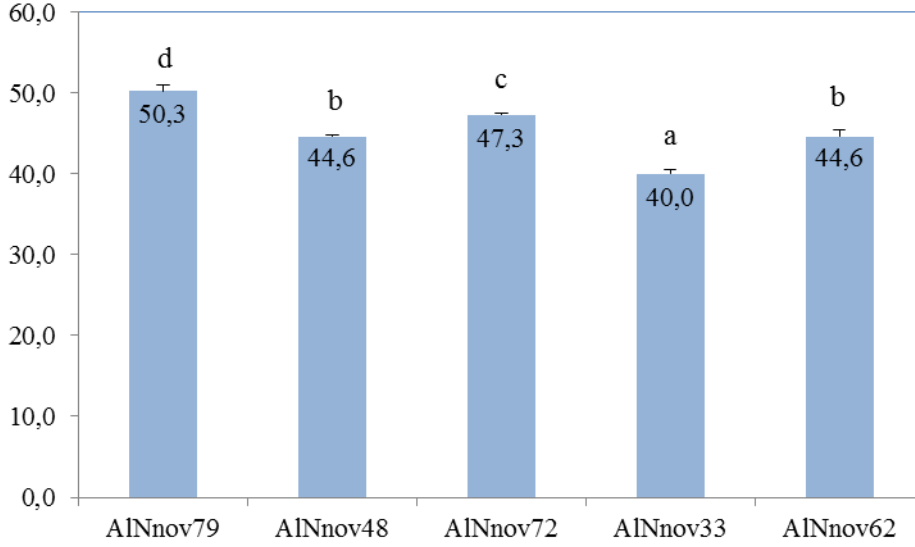
3.4. Patogenisite çalışmaları

Patogenisite çalışması sonucunda, Ferragnes çeşidi badem fidanlarına yapılan inokulasyonların 60 gün sonra değerlendirmesi yapılmıştır. İnokulasyon yapılan dallarda zank akıntıları gözlenmiştir. Lezyonlu alanların kahverengi renk aldığı ve enfeksiyonun ilerlediği saptanmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. *N. novaehollandiae*'nin farklı izolatlarının patojenisite denemeleri sonucu uygulama yapılan dallarda (A, B) oluşan zank akıntısı (C, D) ve lezyonlu alanlar (E, F).

Ayrıca, dallarda enfekteli alanları ölçülerek lezyon uzunlukları (mm) belirlenmiştir. Kontrol olarak belirlenen fidan da hiçbir enfeksiyona rastlanmamıştır. *N. novaehollandiae*'nin 5 farklı izolatu değerlendirildiğinde, lezyon uzunluğu 50.3 mm ile en fazla AlNnov79 ve 40,0 mm ile en az AlNnov33 izolatlarında ortaya çıktığı gözlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre en virulent izolatlar, AlNnov 79 ve AlNnov72 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5). Enfeksiyonlu alanlardan yapılan geriye izolasyonlar sonucunda *N. novaehollandiae*'nin patojen olduğu saptanmıştır.



Şekil 5. *Neoscytalidium novaehollandiae*'nın 5 farklı izolatının Ferragnes çeşidi badem fidanlarındaki lezyon uzunlukları (mm).

3.5. Bazı fungusitlerin Fungal patojenin miselyal gelişimini üzerine *In vitro* biyoetkinlikleri

In vitro koşullarda 5 farklı fungusitin AINnov79 izolatına etkinliği değerlendirildiğinde, tüm fungusitlere karşı *N. novaehollandiae*'nin duyarlı olduğu saptanmıştır. Çalışmada ele alınan fungusit etken maddelerine göre en yüksek etkinlik, %100 etki değerini en düşük konsantrasyonda yakalayan 0.01 µg/ml ile fluazinam ve 5 µg/ml ile tebuconazole olmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Seçilmiş bazı fungusitlerin, *in vitro* koşullarda *N. novaehollandiae* üzerinde antifungal etki düzeyleri (%) ve EC₅₀ değerleri

Fungisitler ve uygulama dozları (µg/ml)						
Trifloxystrobin						
Konsant.	5	10	25	50	100	*EC₅₀
%Etki	13.4	26.3	54.6	74.3	100	19.5±0.2
Tebuconazole						
Konsant.	0,5	1	3	5	EC₅₀	
%Etki	58.4	78	92.1	100	0.4±0.2	
Thiophanate - methyl						
Konsant.	0,1	0,5	1	3	5	EC₅₀
%Etki	31.3	59.3	67.5	78	95	0.3±0.1
Fluazinam						
Konsant.	0,001	0,003	0,005	0,007	0,01	EC₅₀
%Etki	30	64.6	75	88.7	100	0.002±0.2
Boscalid+ pyraclostrobin						
Konsant.	0,5	1	3	5	10	EC₅₀
%Etki	8.3	38.4	73.5	87.5	100	2.2±0.1

Ayrıca EC₅₀ değerleri incelendiğinde ise, en yüksek etkinlik, 0.002 µg/ml ile fluazinam olurken bunu 0.3 ve 0.4 µg/ml ile thiophanate - methyl ve tebuconazole fungusitleri izlemiştir. Buna göre etkinliği en düşük fungusit ise trifloxystrobin (19.5 µg/ml) olarak belirlenmiştir (Çizelge 3).

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, bölgede yetiştiriciliği yapılan badem ağaçlarında kanser ve geriye doğru ölümlere neden olan fungal hastalık etmeni morfolojik ve moleküler metotlara dayanarak tanılanmış, etmenin virülenslik düzeyi belirlenmiş ve bazı fungusitlerin patojene karşı *in vitro* etkinliği ortaya konmuştur. Örnekleme yapılan bahçelerdeki ağaçların yapraklarında kloroz, nekrozlar, solgunluk, geriye doğru ölüm ve gövdelerde zamklanmalar gözlenmiştir. Bu gözlem ve bulgular, *Neoscytalidium* cinsine bağlı türlerin neden olduğu California'da badem kanser ve sürgün yanıklığı (Nouri ve ark., 2018) ile Türkiye'de badem ağaçlarında gövde kanseri ve dallarda geriye doğru ölüm belirtileri ile destekler nitelikte bulunmuştur. Bu hastalıklı ağaçlardan alınan hastalıklı doku örneklerinden yapılan izolasyonlarda elde edilen fungal tür, morfo-kültürel ve moleküler analizler sonucunda *Neoscytalidium novaehollandiae* olarak tanımlanmıştır. Bu türün tanısı, koloni karakteristikleri ve diğer tipik anamorfik özelliklerinin morfolojik ve mikroskopik verileri, Phillips ve ark. (2013)'nın önerdiği karakteristik özellikleri ile uyumlu bulunmuştur. Bu türün tanısı, ayrıca ITS ve TEF1- α gen bölgelerine ait dizi analizlerini kullanarak doğrulanmıştır. Bununla birlikte son yıllarda Botryosphaeriaceae familyasına bağlı birçok yeni tür, morfolojik karakterizasyonla bağlantılı olarak moleküler filogenetik analizlere dayalı olarak gerçekleştirilmektedir (Crous ve ark., 2006; Slippers ve Wingfield, 2007; Inderbitzin ve ark., 2010; Phillips ve ark., 2013; Slippers ve ark., 2013). *N. novaehollandiae*, Avustralya'da incir, akasya gibi bitki türlerinde kaydedilirken (Farr ve Rossman, 2021), ülkemizde bağlarda (Akgül ve ark., 2019) ve bademde (Ören ve ark., 2020) ilk kayıt olarak bildirilmiştir.

N. novaehollandiae AIN79'un *in vitro* koşullarda morfo-kültürel çalışmaları sonucunda, 25-35°C' de optimum düzeyde gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Gövde kanseri ve geriye doğru ölüm belirtilerinin gözlemlendiği bölgedeki badem bahçelerinde yaz dönemi başlangıcından itibaren sıcaklıkların tipik olarak yükselmeye başlaması ile birlikte 35 °C civarında seyreden sıcaklıklarla birlikte bu hastalıkların oluşum düzeyinde artış görülme olasılığının artması kaçınılmaz olacaktır. Bu bulgu ve gözlemlerimiz, sıcak yaz günlerinin hüküm sürdüğü California'da bademlerde benzer durumun söz konusu olduğunu bildiren Nouri ve ark. (2018)'nin verileri ile doğrulanmaktadır.

Botryosphaeriaceae familyasına bağlı türler, endofit, saprofit ve bitki patojenlerinden oluşmaktadır. Yapılan bir çalışmada (Inderbitzin ve ark., 2010), badem ağaçlarından elde edilen izolatların büyük çoğunluğu, *Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum parvum*, *Neof. mediterraneum* ve *Neof. nonquaesitum* olarak belirlenirken, az bir kısmı ise *Diplodia seriata*, *Dothiorella sarmentorum* ve *Macrophomina phaseolina* olarak tanımlanmıştır. İspanya'da yürütülen benzer çalışmalarda (Gramaje ve ark., 2012; Olmo ve ark., 2016), badem ağaçlarında ölüme neden olan türler, *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia olivarum*, *D. seriata*, *Neofusicoccum luteum*, *Neof. mediterraneum*, *Neof. australe* ve *Neof. parvum* olarak tanımlanmıştır.

Ferragnes çeşidi badem fidanlarında yürütülen patojenisite denemesinde, inokulasyondan 60 gün sonra *N. novaehollandiae*'nin 5 farklı izolatında lezyon uzunluğu en fazla, AINnov79 izolatında tespit edilmiştir. İspanya'da yürütülen benzer bir çalışmada (Olmo ve ark., 2016), bademde kanser ve geriye doğru ölüme neden olan 5 fungal tür ile tarla koşullarında Ferragnes'in de içinde olduğu 4 farklı badem çeşidinde yürüttükleri patojenisite denemelerinde, en virüent izolatların *Neofusicoccum* spp. olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, *N. novaehollandiae* fungusu üzerinde *in vitro* koşullarda fungusit denemesinde fluazinam, en etkili fungusit olarak tespit edilmiştir. Bunu, thiophanate-methyl ve tebuconazole fungusitleri izlemiştir. Özellikle yıllık budama işlemlerinin yapıldığı badem bahçelerinde budama yaralarını Botryosphaeriaceae familyasına bağlı türlerin neden olduğu enfeksiyondan korumak için fungusit uygulamaları önerilmektedir (Olmo ve ark., 2017).

Sonuç olarak literatür bilgilerinden de anlaşılacağı üzere badem ağaçlarında Botryosphaeriaceae familyasına bağlı türlerin sayısı ve yoğunluğu ülkelere ve coğrafik bölgelere göre değişmektedir (Inderbitzin ve ark., 2010; Olmo ve ark., 2016). Konukçuya özelleşmesi olmayan ve geniş bir konukçu dizisi ve dağılıma sahip bu türler, diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye'de de sert, yumuşak çekirdekli ve sert kabuklu meyve türleri ile zeytin ağaçlarında iklim koşullarına bağlı olarak potansiyel bir tehdit unsuru olarak göz önüne alınmalıdır. Bu bağlamda badem ağaçlarında ortaya çıkan fungal hastalıklarla entegre mücadele için ortak çaba ve IPM stratejileri geliştirmek zorunludur.

Teşekkür

Bu çalışma, Tarım Orman Bakanlığı, Batman İl Müdürlüğü ve Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi işbirliği ile gerçekleştirilmiştir.

Kaynakça

- Akgül D. S., Savaş, N. G., & Özarslandan, M. (2019). First report of wood canker caused by *Lasiodiplodia exigua* and *Neoscytalidium novaehollandiae* on grapevine in Turkey. *Plant Disease*, 103(5), 1036.
- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91, 553–556.
- Crous, P. W., Slippers, B., Wingfield, M. J., Rheeder, J., Marasas, W. F. O., Philips, A. J. L., Alves, A., Burgess, T., Barber, P., & Groenewald, J. Z., (2006). Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology*, 55, 235-253.
- Toker Demiray, S., & Akçali, E., (2020). Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde Antepfıstığında Salkım ve Sürgün Yanıklık Hastalığı (*Botryosphaeria dothidea*)'nın Patojenik ve Moleküler Karakterizasyonu. *YYÜ TAR BİL DERG (YYU J AGR SCI)* 30 (4): 721-731
- Dervis, S., Turkolmez, S., Ciftci, O., Ulubas Serce, C., Dikilitas, M., (2019a). First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing canker, shoot blight, and root rot of pistachio in Turkey. *Plant Disease* 103(6): 1411.
- Dervis, S., Turkolmez, S., Ciftci, O., Ulubas Serce, C., Dikilitas, M., (2019b). First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing black canker and root rot of walnut in Turkey. *Plant Disease* 103(8): 2129.
- Dissanayake, A. J., Camporesi, E., Hyde, K. D., Yan, J. Y., & Li, X. H., (2017). Saprobic Botryosphaeriaceae, including *Dothiorella italica* sp nov., associated with urban and forest trees in Italy. *Mycosphere* 8, 1157-1176.
- Eldoğan, Ü., Şahan, A., & Çoban, N. (2014). Current situation of almond cultivation in Turkey and World. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue*, 2, 2014.
- FAO, FAOSTAT (2020) *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> FAOSTAT (2020) Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Farr, D. F., Rossman, A. Y. (2021). *Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA*. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldbases/> Retrieved July 5, 2021.
- Gramaje, D., Agustí-Brisach, C., Perez-Sierra, A., Moralejo, E., Olmo, D., Mostert, L., Damm, U., & Armengol, J. (2012). Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). *Persoonia*, 28, 1-13.
- Gusella, G., Morgan, D. P., Michailides, T. J. (2021). Further Investigation on Limb Dieback of Fig (*Ficus carica*) Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in California. *Plant Disease*, 105, 2.
- Hosseinalizadeh, S., Erincik, Ö., Açıkgöz, S. (2021). Ege Bölgesi Bağ Alanlarından Elde Edilen *Phomopsis viticola* İzolatlarının Morfolojik Moleküler ve Patojenik Karakterizasyonu. *YYÜ TAR BİL DERG (YYU J AGR SCI)* 31 (2): 305-317.
- Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Trouillas, F. P., & Michailides, T. J. (2010). A six locus phylogeny reveals high species diversity in Botryosphaeriaceae from California almond. *Mycologia*, 102(6), 1350–1368.
- Kayım, M., Endes, A., & Eskalen, A. (2015) *First report of Neofusicoccum parvum and Diplodia sp. associated with wood canker and dieback on almond in Turkey*. XVIII. International plant protection congress (IPPC), Berlin, Germany p.798.
- Kurt, Ş., Uysal, A., Soylu, E. M., Kara, M., & Soylu, S. (2019). First record of *Neoscytalidium novaehollandiae* associated with pistachio dieback in the Southeastern Anatolia region of Turkey. *Mycologia Iranica*, 6(1), 55 – 57.
- Kurt, Ş., Soylu, S., Uysal, A., Soylu, E. M., & Kara, M. (2020). Ceviz gövde kanseri hastalığı etmeni *Botryosphaeria dothidea*'nın tanılanması ve bazı fungusitlerin hastalık etmenine karşı in vitro antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. *MKU Tar. Bil. Derg.*, 25, 46-56.

- Lynch, S. C., Eskalen, A., Zambino, P. J., Mayorquin, J. S. (2013). Identification and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with coast live oak (*Quercus agrifolia*) decline in southern California. *Mycologia*, 105(1), 125–140.
- Moral, J., Morgan, D., & Michailides, T. J. (2019). Management of *Botryosphaeria* canker and blight diseases of temperate zone nut crops. *Crop Protection* 126, 104927.
- Nouri, M. T., Lawrence, D. P., Yagmour, M. A., Michailides, T. J., & Trouillas, F. P. (2018). *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Canker, Shoot Blight and Fruit Rot of Almond in California. *Plant disease*, 102, 1638-1647.
- Nouri, M. T., Lawrence, D. P., Holland, L. A., Doll, D. A., Kallsen, C. E., Culumber, C. M., & Trouillas, F. P. (2019). Identification and pathogenicity of fungal species associated with canker diseases of pistachio in California. *Plant disease*, 103(9), 2397-2411.
- Olmo, D., Armengol, J., Leon, M., & Gramaje, D. (2016). Characterization and Pathogenicity of Botryosphaeriaceae Species Isolated from Almond Trees on the Island of Mallorca (Spain). *Plant Disease*, 100(12), 2483-2491.
- Olmo, D., Gramaje, D., & Armengol, J. (2017). Evaluation of fungicides to protect pruning wounds from Botryosphaeriaceae species infections on almond trees. *Phytopathologia Mediterranea*, 56, 77–86.
- Ören, E., Koca, G., Gencer R., & Bayraktar, H. (2020). First report of *Neoscytalidium novaehollandiae* associated with stem canker and branch dieback of almond trees. *Australasian Plant Disease Notes*, 15, 17
- Phillips, A. J. L., Alves, A. J., Slippers, B., Wingfield, M. J., Groenewald, J., & Crous, P. W. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76, 51-167.
- Ray, J. D., Burgess T., & Lanoiselet V. M. (2010). First record of *Neoscytalidium dimidiatum* and *N. novaehollandiae* on *Mangifera indica* and *N. dimidiatum* on *Ficus carica* in Australia. *Australian Plant Disease Notes*, 5, 48–50.
- Slippers, B., Boissin, E., Phillips, A. J. L., Groenewald, J. Z., Lombard, L., Wingfield, M. J., Postma, A., Burgess, T., & Crous, P. W. (2013). Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriales: a systematic and evolutionary framework. *Studies in Mycology*, 76, 31-49.
- Slippers, B., & Wingfield, M. J. (2007). Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews* 21, 90-106.
- Uysal, A., & Kurt, Ş. (2019) Limonda antraknoz hastalığı etmeni *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.'in bazı fungusitlere karşı in vitro duyarlılığı. *Bitki Koruma Bülteni*, 59(1), 53-62.
- Uysal, A., Kurt, Ş., Kara, M., Soylu, S., Soylu, E. M. (2021). Bazı Fidanlıklarda Görülen Toprak Kökenli Fungusların Belirlenmesi. *YYÜ TAR BİL DERG (YYU J AGR SCI)* 31 (1): 142-149.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds). *In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322), Academic Press, San Diego.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

The Effects of Different Tillage Techniques on the Production Costs in Fallow-Wheat Rotation System

Derya SUREK¹, Celal CEVHER^{*2}, Ufuk TURKER³

¹Soil, Fertilizer and Water Resources Central Research Institute, Ankara, Turkey

²Field Crops Central Research Institute, Ankara Turkey

³University of Ankara, Agricultural Machinery and Technology Engineering, Ankara

¹<https://orcid.org/0000-0001-5342-4382>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3631-0321>, ³<https://orcid.org/0000-0002-7527-7376>

*Corresponding author e-mail: celal.cevher@tarimorman.gov.tr

Article Info

Received: 29.06.2021

Accepted: 07.03.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.959650

Keywords

Fallow-wheat,
Production cost,
Single product budget,
Wheat planting method

Abstract: The adoption and applicability of the technologies developed in agriculture by farmers are very important for agronomic studies. There are a limited number of economic studies comparing different tillage methods with each other. This study was conducted in the land of Polatlı Agricultural Enterprise between 2011 and 2017 to determine the amounts of physical production inputs and unit production costs of three different tillage operations in the fallow-wheat rotation system. The data consist of the production inputs in the Conventional Tillage, Minimum Tillage, and Direct Seeding practices. For the economic analysis, Single Product Budget Analysis was used. All the farmers' production costs in the fallow-wheat rotation system were considered in the analysis. Among the practices, Gross Production Value (GPV) was obtained the most from the (509.63\$ ha⁻¹) practice. This practice was followed by Direct Seeding (486.13\$ ha⁻¹) and Minimum Tillage (421.92\$ ha⁻¹) practices, respectively. The profit threshold was exceeded in all practices, and production activities' variable and total costs were fulfilled. The highest relative profit rate was obtained in Direct Seeding (1.77) practice, and it was followed by Conventional Tillage (1.30) and Minimum Tillage (1.08) practices, respectively. In order to obtain an income of \$1 in wheat production, the lowest production cost was obtained in the Direct Seeding practice. With the Direct Seeding application, it can be ensured that economic wheat production, preservation of soil structure, reduction of input costs, and less economic damage to the farmer in changing climate conditions can be achieved.

To Cite: Surek, D, Cevher, C, Turker, U, 2022. The Effects of Different Tillage Techniques on the Production Costs in Fallow-Wheat Rotation System. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 143-151. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.959650>

Nadas-Buğday Ekim Nöbetinde Uygulanan Farklı İşleme Tekniklerinin Üretim Maliyeti Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 29.06.2021

Kabul: 07.03.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.959650

Öz: Tarımda geliştirilen teknolojilerin, çiftçiler tarafından benimsenmesi ve uygulanabilirliği, agronomik çalışmalar için oldukça önemlidir. Farklı toprak işleme metotlarının birbirleri ile kıyas edildiği ekonomik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmada, 2011-2017 yılları arasında yürütülen nadas-buğday ekim nöbeti sistemindeki üç farklı toprak işleme uygulamasının fiziki üretim girdi

Anahtar Kelimeler

Nadas-buğday,
Üretim maliyeti
Tek ürün analizi,
Buğday ekim yöntemi,

miktarları ve birim üretim maliyetlerinin tespiti amaçlanmıştır. Çalışma Polatlı Tarım İşletmesi arazisinde yürütülmüştür. Veriler, Geleneksel Toprak İşleme, Azaltılmış Toprak İşleme ve Doğrudan Ekim uygulamalarındaki üretim girdileridir. Ekonomik analizde, Tek Ürün Bütçe Analiz yöntemi kullanılmıştır. Analizde, çiftçinin nadas-buğday ekim nöbeti sistemindeki üretim maliyetlerinin tamamı dikkate alınmıştır. Uygulamalar arasında en fazla Gayri Safi Üretim Değeri Geleneksel Toprak İşleme (\$509.63 ha⁻¹) uygulamasından elde edilmiştir. Sırasıyla bu uygulamayı Doğrudan Ekim (\$486.13 ha⁻¹) ve Azaltılmış Toprak İşleme (\$421.92 ha⁻¹) uygulamaları izlemiştir. Uygulamaların tamamında kâr eşiği aşılmış ve üretim faaliyetlerinin değişen ve toplam masrafları karşılanmıştır. En fazla nispi kar oranı Doğrudan Ekim (1.77) uygulamasında elde edilmiş, bunu sırasıyla Geleneksel Toprak İşleme (1.30) ve Azaltılmış Toprak İşleme (1.08) uygulamaları takip etmiştir. Buğday üretiminde 1 \$'lık net gelirin elde edilmesi için, en düşük üretim masrafı Doğrudan Ekim uygulamasında elde edilmiştir. DS uygulaması ile ekonomik buğday üretiminin sağlanması, toprak yapısının korunması, girdi maliyetlerinin azaltılması ve değişen iklim koşullarında çiftçinin ekonomik bakımından daha az zarar görmesi sağlanabilir.

1. Introduction

Wheat, which can be cultivated in almost every region of Turkey, ranks first in terms of cereal production. According to the data of 2019, wheat cultivation areas constitute 6 846 327 ha (63.55%) of cereal cultivation in 10 772 160 ha in Turkey. Total wheat production in Turkey is 19 000 000 tons, and the average yield is 2 780 kg ha⁻¹. Central Anatolia Region (CAR) is Turkey's most important cereal cultivation area in terms of wheat cultivation area and production. In CAR, the wheat cultivation area is 2 708 600 ha, and it constitutes 39.5% of the total cultivation area, while wheat production, which is 6 971 613 tons, constitutes 36.7% of Turkey's wheat production. The fact that annual precipitation in CAR is insufficient and its distribution by seasons is irregular emerges as the most important ecological characteristic of the region. This situation causes the average wheat yield to be below the average of Turkey (2 670 kg ha⁻¹) (TurkStat, 2019). Therefore, the ecological characteristics of the region necessitate fallow-wheat rotation in many regions (Genc, 1976).

In CAR, where the fallow-wheat rotation system is applied, the income levels of small- and medium-sized farmers are low. Large-scale farmers experience losses in their agricultural incomes due to the high production costs (Cevher and Altunkaynak, 2020). This situation causes the farmers in CAR to fall behind compared to the farmers in other regions economically. For this reason, various studies should be conducted to increase the incomes of the farmers who practice the fallow-wheat rotation system. In this context, it is important to reduce studies the production costs. For example, draft force requirements for tillage have a significant share in total production costs. The previous studies conducted in the region determined that farmers could not use the agricultural production factors at the optimum level due to a lack of technical knowledge. It was determined that the most important cost component in wheat production is the diesel fuel expenditures (between 43.0% and 45.15 (Cetin and Vardar, 2009; Bayramoglu et al., 2010). Accordingly, the results obtained in agronomy research should be put forward with economic analysis methods in order to reduce the production cost in the fallow-wheat rotation system in CAR and Turkey and achieve successful results. Particularly in developing countries, the primary objectives of mechanizing crop production are to reduce human drudgery and raise the farm's output by either increasing the crop yield or increasing the area under cultivation (Ajmer, 2006; Jekayinfa, 2006).

In Turkey, many studies have been conducted to reduce the production costs and to increase incomes (Ozkan, 2001; Aydin and Unakitan, 2016; Ulu et al., 2016; Guler and Korkmaz, 2018; Bayramoglu et al., 2010; Basaran and Engindeniz, 2015; Cebi et al., 2017; Aytıp and Akbay, 2018); however, there are few and limited numbers of studies analyze the input use efficiency in the fallow-wheat rotation system. For that reason, the present study aimed to contribute to the elimination of this deficiency with our study results. However, this is just the case in Turkey since there are worldwide conducted studies on the input use efficiency in different countries (Rosli et al., 2013; Adeoye et al., 2104; Malinga et al., 2015; Shahgholi and Moinfar, 2019). One of these studies, for example, revealed that fuel expenditures were 19 to EUR 54 less in the Direct Seeding (DS) tillage system compared to

the Conventional Tillage (CT) system in wheat production (Sarauski et al., 2009). Similarly, Sørensen and Nielsen (2005) reported that energy input decreased by 18-53% compared to CT, depending on the applied methods and techniques. According to Perrin et al. (1976) economic analysis of the agronomic studies would significantly contribute to the adoption of the results by farmers, and partial budgeting can successfully be used in this regard.

A considerable number of agronomic studies have been conducted on conventional wheat production in the fallow-wheat rotation system. However, the literature review showed that the number of studies making economic comparisons of CT, Minimum Tillage (MT), and DS tillage methods are limited in Turkey. For the environment friendly and sustainable agricultural production, traction power requirements should be minimized. Therefore, it is necessary to determine the most cost-effective tillage method in wheat production.

It is aimed to make an economic analysis of three different tillage applications (CT, MT and DS) in the fallow-wheat rotation system applied in CAR. In addition, it is within the scope of the study to determine which of the tillage practices the farmer will prefer according to the results of wheat production cost, gross profit, net profit, and relative profit ratio. This study is quite remarkable in terms of the lack of studies on this issue in Turkey, and thus the literature is expected to fill.

2. Material and Methods

2.1. Materials

Study data comprise the experimental data for the different tillage methods (CT, MT and DS) on wheat yield was investigated in the project titled “The Effect of Different Soil Tillage Technics on Carbon Sequestration and Soil Sustainability” carried out on the land of Polatlı Agricultural Enterprise between 2011-2017 under the guidance of Soil, Fertilizer and Water Resources Central Research Institute (Surek et al., 2018). Product and input prices were the purchase and sale prices obtained in the free market, Turkish Grain Board (TGB) wheat purchase prices, and fallow wheat production cost records for Ankara, 2018. In the analysis, costs and incomes were calculated at current prices for the year 2018, and then, were converted to US Dollar (\$), considering the exchange rates issued at the midyear point by the Central Bank of Turkey. The studied tillage methods are given below.

Conventional Tillage (CT): It is the widely employed tillage method in the fallow-wheat rotation system. In this method, fallow land is tilled with moldboard plough at the first time, as secondary tilling is executed with wing type harrow. The tertiary and more tilling can also be considered if weeds develop in the spring.

Minimum Tillage (MT): Unlike the conventional system, the soil is tilled by ripping the soil instead of overturning the upper soil layer. That is, mouldboard plough is replaced with Gobble disc or wing type harrow in this tillage method.

Direct Seeding (Zero Tillage): No tillage is performed in this method. Instead, total herbicides are used to control the weeds.

2.2. Study Area

The experiment was conducted in the farmland of the Polatlı Agricultural Enterprise. The experimental area is shown in Figure 1. The study area is located in the CAR where the fallow-wheat rotation system is most commonly applied due to the insufficient and uneven rainfall regime. The study area has the characteristics of CAR. In this region, the total fallow land is 3 387 382 ha⁻¹, and about half of the farmers employ the fallow-wheat system. The area where tillage methods are applied and the areas where the methods can be applied are shown in figure 2.

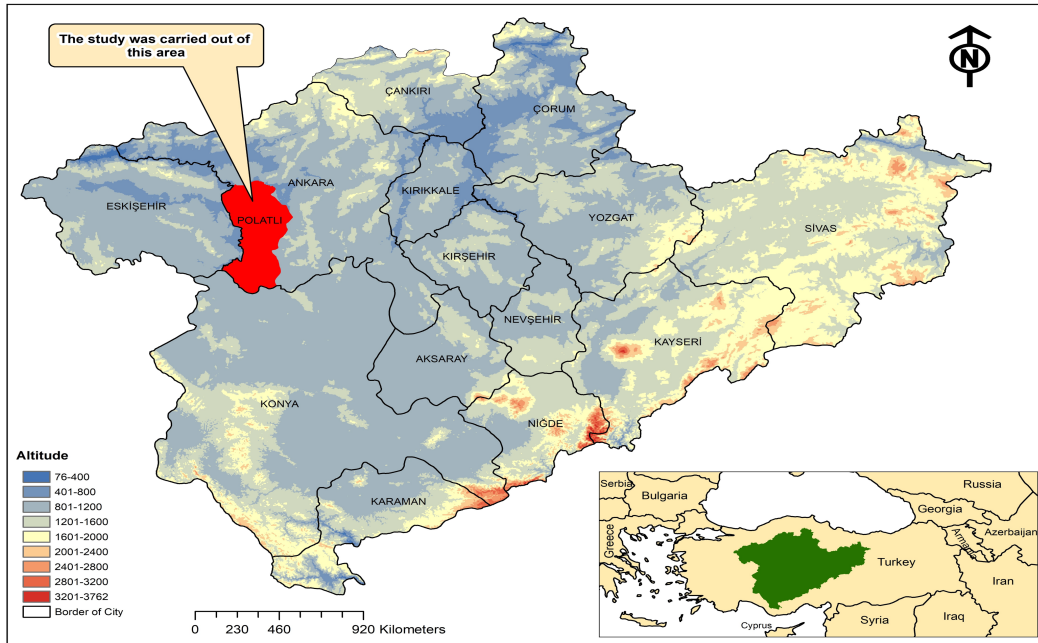


Figure 1. Area of study and areas to which study results can be applied.

2.3. Data Collection

The primary data of the study were obtained from the experiment results established on the land of PAE as the previous relevant research findings, and the records of various organizations were used as the secondary data. The experiment results for the period of 2011-2017 were evaluated using the input and output prices for the year 2018. The calculations were made by considering the average data of the trial results. The current prices of the expenses incurred for each method (CT, MT, DS) were taken as a basis in calculating the wheat production cost. Input and product sales prices were obtained from the averages of prices traded in **Konya, Polatlı and Eskişehir** Commodity Exchange, Agricultural Credit Cooperatives of Turkey, Chambers of Agriculture, Ministry of Agriculture, and Forestry, Turkish Grain Board, and free market.

2.4. Data Analysis Methods and Techniques

Wheat production costs and revenues were calculated with the single product budget analysis method used by Kiral et al (1999). Accordingly, the costs and revenues were calculated for wheat production, considering each tillage method. In the Single Crop/product Budget method, cost and revenue components are taken into consideration only for the crops or product of interest, not all crops cultivated in an agricultural enterprise (Demircan et al., 2005; Aytıp and Akbay, 2018). Descriptive statistics, gross income, net profit, and relative profit rates were calculated for the economic comparisons of the tillage methods. IBM SPSS 23 package program was used in the analysis of the data. The gross production value was calculated by multiplying the yields with the product prices. Afterward, gross profit and net profit were calculated according to the following formulas (Kiral et al., 1999).

$$\text{Gross Profit} = \text{Gross production value} - \text{Variable costs} \quad (1)$$

$$\text{Net (Absolute) Profit} = \text{Gross production value} - \text{Production costs} \quad (2)$$

$$\text{Relative (Proportional) Profit} = \frac{\text{Gross production value}}{\text{Production costs}} \quad (3)$$

3. Results and Discussion

Production techniques in the fallow-wheat rotation system were compared and evaluated, taking into account the production costs and incomes in the CT, MT, and DS methods.

In the fallow-wheat rotation methods, the highest amount of fuel consumption was realized in the CT method. This method was followed by the MT and DS methods, respectively. It was determined that in the fuel consumption of the DS method, 51.61% savings were achieved compared to other methods. They reported that the DS method saves fuel consumption six times compared to other applications (Aase and Schaefer, 1996; Yalcin et al., 2005). It has been reported that MT and DS methods reduce the energy need between 15-50% compared to other methods (Anonymous, 2018). In our study, the highest average wheat yield was obtained in the CT method, followed by DS and MT methods, respectively. In a similar study on this subject, they reported that the highest wheat yield was in the MT method, followed by the CT and DS methods, respectively (Yalcin et al., 2005). The reason for this difference may be due to the fact that Yalcin et al. carried out in the Aegean Region, where the amount of precipitation is high, and our study was carried out in the Central Anatolian Region, where the rainfall amount is insufficient. Although the applied methods are similar, it is natural to have different results due to the differences in precipitation amount, soil structure, production costs, and other factors in the regions (Sümbül and Sönmez, 2021; Şatır and Berberoğlu, 2021).

In our study, the proportional distribution of draft power costs within the total production costs was determined. It was determined that the tensile strength ratio in the CT method was 45.89%, 44.21% in the MT method, and 17.81% in the DS method, respectively. In previous similar studies, it was determined that the ratio of the drawbar power costs used in the CT method to the total production cost in the Marmara Region ranged from 43.0% (Bayramoğlu et al., 2010) to 45.15% (Cetin and Vardar, 2009). It can be said that the results of this research are in parallel with our research results. In another study, it was determined that the rate of draft force used in wheat production in Erzurum province was 28.16% (Birinci and Kucuk, 2004). These results show that the draft power ratios in wheat production differ according to the regions and have an important place in the production cost.

Production costs and production incomes of three different methods applied in the fallow-wheat rotation system are given in Table 1. When Table 1 is examined, the highest variable cost is in the CT method, followed by MT and DS, respectively. It is seen that this ranking continues in the same way in terms of total production costs. According to the production costs data, although the farmer is expected to choose the least production cost, it is an important indicator of how much profit the farmer will earn for one unit of cost. The main purpose of economic principles is to obtain the maximum profit for a certain cost (Erkus et al., 2005). In accordance with these principles, gross profit, net profit, and relative profit rates obtained from three different methods were determined. In the CT method, the cost of growing one kg of wheat was found to be \$0.256, \$0.306 in MT, and \$0.189 in DS, respectively. According to these results, it was determined that the wheat farmer lost \$0.030 per kilogram in the CT method and \$0.080 in the MT method but made a profit of \$0.037 in the DS method. It can be said that the DS method is superior to the other two methods to obtain 1 kg of wheat. Therefore, it is important for sustainable wheat production that CT and MT methods are not preferred by the farmers in the fallow-wheat rotation system. However, due to the low precipitation regime in the years of the study, wheat yield per hectare was low in all three methods. It has been determined that the wheat yield is 2780 kg ha⁻¹ per hectare in Turkey, and this yield in the research region is lower than the country average, namely 2670 kg ha⁻¹ (TurkStat, 2019). In the fallow-wheat rotation system, although there are differences between the tillage methods over the years, the amount of precipitation falling during the development period of the wheat has been a determining factor on the yield (Anonymous, 2018). Therefore, wheat product costs vary significantly at the level of province, region, and even enterprises (Birinci and Kucuk, 2004; Basaran and Engindeniz, 2015). Therefore, it is important to support different policies in different provinces for sustainable production and food security (Moradabadi et al., 2020).

In the fallow-wheat rotation, the Gross Production Value (GPV) consists of the wheat yield and the straw value as a by-product. When Table 1 is examined in terms of GPV, it is seen that the highest GPV was obtained in the CT method, followed by DS and MT, respectively. In a similar study conducted in CAR, it was determined that the GPV obtained in the CT method was higher than that obtained from the DS method (Kaya et al., 2010). In another study, it was reported that the DS method contributed to reducing the production cost and improving soil properties (Aryal et al., 2015). Our results are similar

to the results of the above-mentioned study. The farmer's preference for the CT method according to GPV may not be sufficient for sustainable wheat production. Therefore, the farmer should make a choice to decide on production by evaluating the net profit and relative profit rates (Erkus et al., 2005). In order to generate net income in a business, the total gross profit must be greater than any other expense element, excluding variable expenses. Therefore, in order to generate income in businesses, increasing the gross profit should be the ultimate goal. In our study, it was determined that the gross profit obtained in the CT method was \$214.00 ha⁻¹, 218.78 \$/ha in the MT method, and \$344.98 ha⁻¹ in the DS method, respectively. According to these results, it was concluded that the highest gross profit per hectare was obtained from the DS method. Therefore, in terms of gross profit, it would be the right decision for farmers in the CAR to choose the DS method.

Considering the production inputs and unit costs of three different tillage methods in the fallow-wheat rotation system, the highest net profit was \$314.58 ha⁻¹ in the DS method, followed by the CT method with 170.94 and the MT method with \$43.13 ha⁻¹, respectively (Table 1). These results were directly proportional to the production costs, but there were differences in terms of the yield obtained. Because it was concluded that the values obtained in terms of yield were high in the CT method; however, it was in second place in terms of net profit. The highest net profit in fallow-wheat production in CAR is achieved by choosing the DS method. Choosing this method in fallow-wheat rotation in CAR will be an important choice for farmers in terms of sustainable wheat production. In terms of sustainable production in agricultural enterprises, it is not sufficient to decide on the basis of GPV, gross profit, and net profit obtained as a result of production activities. The farmer should also consider the relative profit rate (Erkus et al., 2005). In our study, the relative profit ratio between applications was determined in the fallow-wheat rotation system and is shown in Table 1. It is seen that positive net profit is obtained in wheat production in CT, MT, and DS methods in fallow-wheat rotation. Accordingly, the production and profit threshold in the enterprises has been exceeded, and the variable and total costs of the production activity have been met. Under these conditions, the continuation of wheat production in agricultural enterprises from all three applications is economically acceptable. This result shows that the profit threshold is exceeded in wheat production in all three methods. However, it is seen that the highest relative profit ratio (1.77) was obtained in the DS method in fallow-wheat rotation. If this method is preferred by the farmer, it shows that \$1.77 income will be obtained for production costs of \$1. This ratio also shows that in wheat production in the DS method, an income of \$0.77 is obtained for \$1 expense. The relative profit rate was found to be \$1.30 ha⁻¹ in the CT method and \$1.08 ha⁻¹ in the MT method. In a similar study conducted on this subject, it was concluded that it would be more economical for farmers to switch from the CT method to the DS method in OAB conditions (Gültekin et al., 2011). According to Kan et al. (2018) It has been reported that the profit of nine plants in the CT method is more than 1.55 times the profit obtained from the same plants in the DS method. This difference may be due to the fact that we studied with a single product in our study. Although the wheat yield and gross production value obtained from the CT tillage method were the highest, the low production costs in the DS method and, therefore the increase in the relative profit brought the DS method to the fore. In the light of these results, we can say that it would be advantageous for the OAB farmer to choose the DS method in terms of sustainable wheat production. As a result of the evaluations, it was concluded that the DS method in the fallow-wheat rotation is more economical than the CT and MT methods. This result is consistent with Hernanz et al. (1986), Aase and Schaefer (1996), Cabrera et al. (1995), Arshad et al. (1991), Piggitt et al., (2015), Khan et al. (2017) is similar to the results of the study. It has been determined that the DS method can be successfully applied in dry and hot climate conditions with insufficient moisture regime and wheat production is economically profitable (Turebayeva et al., 2022). However, it should not be forgotten that due to the technical, economic, and meteorological limits in plant breeding, these limits will affect the relative profit rate differently in different years. Global warming, the impact of which we have felt in recent years, and therefore the impact of climate change on practices should be taken into account.

Table 1. Partial budget analysis of conventional agronomic practices*

Cost and Income Elements	Conventional Tillage	Minimum Tillage	Direct Seeding
Yield (kg ha ⁻¹)	2255.0	1866.9	2151.0
Sale price** (\$)	0.226	0.226	0.226
Gross production value (GPV) (\$ ha ⁻¹)	509.63	421.92	486.13
By-product income (Straw)	237.73	192.45	235.47
Total Gross Income (\$ ha ⁻¹)	747.36	614.37	721.60
Variable costs (\$ ha ⁻¹)	533.36	528.58	376.62
Fixed costs (\$ ha ⁻¹)	43.06	42.66	30.40
Total production costs (\$ ha ⁻¹)	576.42	571.24	407.02
Unit cost (\$ kg)	0.256	0.306	0.189
Gross profit (\$ ha ⁻¹)	214.00	218.78	344.98
Net profit (\$ ha ⁻¹)	170.94	43.13	314.58
Relative profit	1.30	1.08	1.77

* Own calculations.

** Turkish Grain Board, Konya, Polath and Eskişehir Commodity Exchange.

4. Conclusion

Performing economic analyses of the experiment results for agronomic practices before recommending to producers will increase the acceptance rate of the developed technologies by producers and contribute to the increase of the value of researchers in the eyes of producers. The highest wheat yield was obtained from CT in three different methods applied. This was followed by DS and MT applications, respectively. However, the cost of growing one kg of wheat in the DS application was found to be lower than in other applications. Due to the low rainfall, the wheat yield per hectare was below the average of Central Anatolia and Turkey in all three applications. In the applied methods, the production threshold has been exceeded (production threshold=total variable costs/product yield) and variable costs in production activities have been covered. Therefore, the fact that CT and MT methods are not preferred by the farmers in the fallow-wheat rotation system is considered important for sustainable wheat production.

By adopting the DS method, that is, in the chemical fallow application, when weed control is done on time and with appropriate pesticides, it can be an alternative to traditional fallow. In the light of the above information, research studies on DS implementation should be given priority in the region. In addition, providing the tools and equipment used in the DS application at a sufficient level will increase the success of this application. In this regard, district agriculture directorates and agricultural non-governmental organizations should act together and provide adequate support to farmers.

References

- Aase, J. K., & Schaefer, G. M. (1996). Economics of tillage practices and spring wheat and barley crop sequence in the Northern great plains. *Journal Soil and Water Conservation*, 51 (2), 167-170.
- Adeoye, I. B., Fashogbon, A.E. & Idris, B.A. (2014). Analysis of technical efficiency of pepper production among farmers under tropical conditions. *International Journal of Vegetable Science*, 20(2), 124-130.
- Ajmer, S. (2006). Economic analysis of wheat production across cropping systems in North - West India. *Indian Journal of Agricultural Research*, 40(3), 171-177.
- Anonymous. (2018). Conservation Agriculture: Economic Benefits. Retrieved January 20, 2019, from <http://www.ecaf.org> (Date of Access: 12.09.2020)
- Arshad, M., Ahmad, S., & Kausar, A. G. (1991). Wheat productivity through zero tillage adaptation in rice-wheat system in FSR project area Shahkot. *Journal of Agricultural Research Lahore*. 29(2), 265-269.
- Aryal, J. P., Sapkota, T. B., Jat, M. L., & Bishnoi, D. K. (2015). On-farm economic and environmental impact of zero-tillage wheat: A case of North-West India. *Experimental Agriculture*, 51(1), 1-16.

- Aydin, B., & Unakitan, G. (2016). Comparatively economical analysis of farms in Trakya Region. *Anadolu Journal of Agricultural Science*, 31(2), 223-232, (In Turkish).
- Aytop, A., & Akbay, C. (2018). Economic analysis of spice red pepper (Maras Pepper) production. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(4), 455-464, (In Turkish)
- Basaran, C., & Engindeniz, S. (2015). Analysis of input use efficiency in green pepper production: A case study for Izmir Province. *Turkish Journal of Agricultural Economics*, 21(2), 77-84, (In Turkish).
- Bayramoglu, Z., Akturk, D., & Tatlidil, F. (2010). The effect of rational source usage on production costs: A case study of Canola production. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 24(3), 62-68, (In Turkish).
- Birinci, A., & Kucuk, N. (2004). Calculating wheat production cost on the farms in Erzurum Province. *Ataturk University Journal of Agriculture Faculty* 35(3-4), 177-181. (In Turkish).
- Cabrera, C. F., & Oleschko, L. K. (1995). The effect of tillage on the internal structure of soil. *Agricultura-Tecnica-en-Mexico*, 21(2), 139-158.
- Cebi, U. K., Aydin, B., Cakir, R., & Altintas, S. (2017). Energy use efficiency and economic analysis in greenhouse head lettuce (*Lactuca sativa* cv Salinas) Farming. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 4(4), 426-433, (In Turkish).
- Cetin, B. & A. Vardar. (2009). An analysis of energy use and input costs for wheat production in Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(2), 352-356.
- Cevher, C., & Altunkaynak, B. (2020). Investigation of socio-economic characteristics of wheat producers on certified seed use: The case of Ankara province. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science*, 30(1), 115-123.
- Demircan, V., Yilmaz, H., & Binici, T. (2005). Determination of cost and return of apple production in Isparta Province. *Turkish Journal of Agricultural Economics*, 11(2), 71-80, (In Turkish).
- Erkus, A., Bulbul, M., Kiral, T., Acil, A. F., & Demirci, R. (2005). *Agricultural Economics*. No.5. Ankara: Ankara University Faculty of Agriculture Education Research and Development Foundation Publications, (In Turkish).
- Genc, İ. (1976). *Field Crops Ecology*. Cukurova University Faculty of Agriculture. Adana. (In Turkish).
- Guler, K. H., Korkmaz, M. (2018). Economic analysis of lavender production in forest villages of Isparta province. *Turkish Journal of Forestry*, 19(2), 156-162, (In Turkish).
- Gultekin, I., Arisoy, R. S., Taner, A., Kaya, Y., Patigoc, F., & Aksoyak, S. (2011). Comparison of different soil tillage systems, under several crop rotations in wheat production at Central Anatolian Plateau in Turkey. *5th World Congress of Conservation Agriculture Incorporating 3rd Farming Systems Desing Conference*, 26-29 September, Brisbane-Avustraliya.
- Hernanz, J.L., Fernandez, Q.C., Sanchez, G.V., & Navarrete, L. (1986). Results obtained in experiments with direct drilling and minimum cultivation in the central zone. *Conservar El Suelo.I.Simposium Sobre Minimo Laboreo En Cultivos Herbaceos. Universidad Politecnica De Madrid*, 145-158.
- Jekayinfa, S. O. (2006). Energy consumption pattern of selected mechanized farms in Southwestern Nigeria. *Agricultural Engineering International, The CIGR Ejournal, Manuscript*, EE 06 001.
- Kan, M., Partigoc, F., Gultekin, I., Arisoy, R. Z., Kaya, Y., Gultekin, S., Sahin, M., Aydogan, S., Ozdemir, F., & Taner, A. (2018). Economical aspects of conservation agriculture (zero tillage-direct seeding) system in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27, 3332-3341.
- Kaya, Y., Arisoy, R.Z., Taner, A., Aksoyak, S., Partigoc, F., & Gultekin, I. (2010). Comparison of conventional planting and direct seeding for wheat cheak pea rotations in Central Anatolian in rainfed conditions. *Journal of Agricultural Machinery*, 6(4), 267-272, (In Turkish).
- Khan, H.Z., Shabir, M.A., Akbar, N., Iqbal, A., Shahid, M., Shakoor, A., & Sohail, M. (2017). Effect of Different Tillage Techniques on Productivity of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agriculture and Basic Sciences*, 2(1), 44-49.
- Kiral, T., Kasnakoglu, H., Tatlidil, F., Fidan, H., & Gundogmus, E. (1999). Cost calculation methodology and database guide for agricultural products. *Agricultural Economics Research Institute Project Report -13*, Ankara, (In Turkish).
- Malinga, N. G., Masuku, M. B., & Raufu, M. O. (2015). Comparative analysis of technical efficiencies of smallholder vegetable farmers with and without credit access in swazil and the case of the Hhohho Region. *International Journal of Sustainable Agricultural Research*, 2(4), 133-145.

- Moradabadi, S. A., Ziaee, S., Boshraadi, H. M., & Keikha, A. (2020). Effect of agricultural sustainability on food security of rural households in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22(2), 289-304.
- Ozkan, B. (2001). Agricultural product costs in Antalya province, input use and production costs for important products in some regions in Turkey. *Agricultural Economics Research Institute*, publication number: 64, Ankara, (In Turkish).
- Perrin, R., Winkelman, D., Moscardi, R., & Anderson, J. (1976). From agronomic data to farmer recommendations an economics training manual. Mexico.
- Piggin, C., Haddad, A., Khalil, Y., Loss, S., & Pala, M. (2015). Effects of tillage and time of sowing on bread wheat, chickpea, barley and lentil grown in rotation in rainfed systems in Syria. *Field Crops Research*, 173: 57-67.
- Rosli, A., Radam, A., & Rahim, K. A. (2013). Technical efficiency of pepper farms in Sarawak, Malaysia: An application of data envelopment analysis. *International Journal of Business and Social Science*, 4(7), 227-234.
- Sarauskis, E., Vaiciukevicius, E., Romaneckas, K., Sakalauskas, A., & Baranauskaite, R. (2009). Economic and energetic evaluation of sustainable tillage and cereal sowing technologies in Lithuania. *The Fourth International Scientific Conference, Rural Development*, 15-17 October, Akademija-Lithuania.
- Shahgholi, G., & Moinfar, A. (2019). Investigation tine type effect on soil fragmentation for conservation tillage. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 29(3), 548-558.
- Sqrensen, C. G., & Nielsen, V. (2005). Operational analyses and model comparison of machinery systems for reduced tillage. *Biosystems Engineering*, 92(2), 143-155.
- Surek, D., Ozcan, H., Yeter, T., Kosger, Y., Namli, A., Turker, U., Kilinc, E., & Koc, A. (2018). The effects of soil tillage techniques on carbon retention and sustainability of soils, project final report. *TAGEM/TSKAD/11/A13/P01*, (In Turkish).
- Sümbül, A., & Sönmez, B. (2021). Relationships of wheat, dry bean and chickpea yields with global climate change in Suşehri District, Turkey. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 31(4), 813-824.
- Şatır, O., & Berberoğlu, S. (2021). Evaluation of land use suitability for wheat cultivation considering geo-environmental factors by data dependent approaches. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 31(3), 528-542.
- Turebayeva, S., Zhapparova, A., Yerkin, A., Aisakulova, K., Yesseyeva, G., Bissembayev, A., & Saljnikov, E. (2022). Productivity of Rainfed Winter Wheat with Direct Sowing and Economic Efficiency of Diversified Fertilization in Arid Region of South Kazakhstan. *Agronomy*, 12 (1), 111. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010111>.
- TurkStat. (2019). Turkish Statistical Institute: Agricultural Statistics Data. Retrieved on March 15, 2020, from <http://www.tuik.gov.tr> (Date of Access: 25.10.2020) (In Turkish).
- Ulu, O., Engindeniz, S., & Altug, O. (2016). Analysis of input use efficiency in okra production in Izmir Province. *Turkish Journal Agricultural Economics*, 22(2), 69-76, (In Turkish).
- Yalcin, H., Cakir, E., & Aykas, E. (2005). Minimum and conventional tillage in wheat. *Journal of Agronomy*, 4(4), 329-332.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Interaction effect of Root Lesion Nematodes and *Fusarium culmorum* Sacc. on the disease complex on some wheat cultivars

Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR^{*1}, Bülent YAŞAR², Ş. Evrim ARICI³, İ. Halil ELEKÇİOĞLU⁴

^{1,2,3}Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Isparta, Turkey

⁴Çukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Adana, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-1969-4041>, ²<https://orcid.org/0000-0002-2302-2267>, ³<https://orcid.org/0000-0001-5453-5869>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-7565-4330>

*Corresponding author e-mail: fatmagoze@isparta.edu.tr

Article Info

Received: 07.09.2021

Accepted: 30.12.2021

Online Published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.992291

Keywords

Disease complex,
Fusarium culmorum,
Interaction,
Root lesion nematode,
Wheat

Abstract: The study was conducted to assess a possible interaction between fungal pathogen of *Fusarium culmorum* Sacc. and Root lesion nematodes at sequentially and simultaneously inoculation. *Fusarium culmorum* spore suspension effect evaluated on plant disease severity and nematode density on moderate resistant wheat line to *F. culmorum* (2-49) and susceptible wheat variety (İkizce) under controlled condition. The disease severity was higher on İkizce cv. than 2-49. This indicates that there is a considerable important pathogen resistance. Simultaneous and sequential inoculation of *Pratylenchus thornei* and *F. culmorum* reduced the final nematode density and reproduction rate more than inoculation with only nematode on İkizce cv. The simultaneously *P. penetrans* and *F. culmorum* inoculation (N+F) affected the positively of final density on İkizce cv. The N+ F treatment affected the positively of *P. neglectus* density on İkizce cv., whereas negative effect was found in pre or post inoculation of *F. culmorum* treatments. No synergistic interactions were detected on 2-49 when plants were co-infected by the root lesion nematode and fungus. It was determined that *P. thornei* had a positive effect on disease severity when it entered the plant simultaneously and before the *F. culmorum* on İkizce cv.. The disease severity decreased in *F. culmorum* was applied four weeks after the *P. neglectus* treatment on 2-49 wheat line and İkizce cv. In the interaction with *F. culmorum* on İkizce cv., differences were determined between the species of root lesion nematodes.

To Cite: Göze Özdemir, F G, Yaşar, B, Arıcı, Ş E, Elekçioğlu, İ H, 2022. Interaction effect of Root Lesion Nematodes and *Fusarium culmorum* Sacc. on the disease complex on some wheat cultivars. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 152-163.
DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.992291>

Bazı buğday çeşitlerinde Kök Lezyon Nematodları ve *Fusarium culmorum* Sacc.'ın hastalık kompleksi üzerindeki etkileşim etkisi

Makale Bilgileri

Received: 07.09.2021

Accepted: 30.12.2021

Online published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.992291

Öz: Çalışma, *Fusarium culmorum* Sacc. ve Kök lezyon nematodları arasındaki olası bir etkileşimi sıralı ve eş zamanlı inokulasyon yapılarak değerlendirmek için yapılmıştır. *Fusarium culmorum* spor süspansiyonunun *F. culmorum*'a orta dayanıklı buğday hattı (2-49) ve duyarlı buğday çeşidinde (İkizce) kontrollü koşullarda bitki hastalık şiddeti ve nematod yoğunluğu üzerine etkisi değerlendirilmiştir. İkizce buğday çeşidinde hastalık şiddeti 2-49 buğday

Anahtar Kelimeler

Hastalık şiddeti,
Fusarium culmorum,
 İnteraksiyon,
 Kök lezyon nematodu,
 Buğday

hattından daha yüksek bulunmuştur. Bu patojene dayanıklılığın oldukça önemli olduğunu göstermektedir. İkizce çeşidinde *Pratylenchus thornei* ve *F. culmorum*'un eş zamanlı ve ardışık inokulasyonu sadece nematod inokulasyonu ile karşılaştırıldığında son nematod yoğunluğunu ve üreme oranını önemli ölçüde azaltmıştır. Eş zamanlı *P. penetrans* ve *F. culmorum* (N+F) inokulasyonu İkizce cv. çeşidinde son nematod yoğunluğunu pozitif etkilemiştir. İkizce çeşidinde N+F uygulaması *P. neglectus* yoğunluğunu olumlu yönde etkilerken, *F. culmorum*'un önce ya da sonra uygulamalarında olumsuz etki tespit edilmiştir. Bitkiler, kök lezyonu nematodu ve fungus tarafından birlikte enfekte edildiğinde, 2-49 buğday hattında hiçbir sinerjistik etkileşim tespit edilmemiştir. *Pratylenchus thornei*'nin *F. culmorum*'dan önce ve eş zamanlı olarak bitkiye inokulasyonunda hastalık şiddetine olumlu etki yaptığı belirlenmiştir. *Fusarium culmorum* hastalık şiddeti 2-49 buğday hattı ve İkizce buğday çeşidinde *P. neglectus* uygulamasından 4 hafta sonra *F. culmorum* uygulamasında azalmıştır. İkizce buğday çeşidinde *F. culmorum* ile etkileşimde, kök lezyonu nematodlarının türleri arasında farklılıklar tespit edilmiştir.

1. Introduction

Wheat is one of the most important food sources with cultivated approximately 20% land area of the world (Braun et al., 2010). Among the world's wheat producers, Turkey has been important level with 16-21 million tonnes of wheat production. However, there are several biotic and abiotic stress factors that seriously affect wheat production. *Pratylenchus neglectus* (Rench, 1924) Filipjev Schuurmanns & Stekhoven and *P. thornei* Sher & Allen, 1953 (Tylenchida: Pratylenchidae) cause significant economic yield losses in wheat by reducing quality and quantity in the world (Smiley and Nicol, 2009). It has been determined that *P. thornei* causes yield loss of 38-85% in Australia, 12-37% in Mexico, 70% in Israel, 20-32% in Turkey, and 50% in the USA (Armstrong et al., 1993; Gözel, 2001; Nicol and Ortiz-Monasterio, 2004; Smiley et al., 2005; Toktay, 2008). In addition, 36-85% yield losses in the spring wheat associated with *P. neglectus* populations were reported in Oregon, USA (Smiley et al., 2005; Yan et al., 2010). *Pratylenchus penetrans* have been recorded in wheat-growing fields of Iran (Ghaderi et al., 2010), Morocco (Mokrini et al., 2016), and Turkey (Yüksel, 1974; Göze Özdemir et al., 2021). *Pratylenchus penetrans* affects wheat crops yield by 10–19% in Canada (Nicol and Rivoal, 2008). It has been reported that *P. thornei* and *P. neglectus* were found in different densities and mixed populations in wheat fields in different regions of Turkey (Yavuzaslanoğlu et al., 2012; Yavuzaslanoğlu et al., 2020; Göze Özdemir et al., 2021). *Fusarium graminearum* (*Gibberella zae*) and *F. culmorum* Sacc. are widespread soil-borne fungi in wheat as root and crown rot diseases and decrease the yield in the world and in Turkey (Miedaner et al., 2008; Poole et al., 2012; Köycü and Sukut, 2018; Erginbaş Orakçı et al., 2018). It was determined that yield losses from *F. culmorum* in Turkey reached 43% in winter wheat and 54% in durum wheat in the Central Anatolian plateau (Bağcı et al., 2001; Hekimhan et al., 2004). *Fusarium culmorum* is known to produce toxins and enzymes to cause infection, and these toxins play an important role in the pathogenicity (Hestbjerg et al., 2002; Llorens et al., 2006) and important in the nematode-fungus interaction with synergism or antagonism (Back et al., 2002). *Fusarium culmorum* spore suspension and culture filtrate had negative effects on root-lesion nematodes in different levels of *in-vitro* studies (Göze Özdemir et al., 2018 and 2021). Similarly, several studies were reported antagonistic relationships between nematodes and fungi (Sankaralingam and McGawley, 1994; El-Borai et al., 2002a and 2002b; Poornima et al., 2007).

Organisms occupying the same niche can interact with each other and are not exceptional for plant pathogenic fungi and nematodes. When plant pathogenic fungi and nematodes occur together on the same plant, they can act independently and have an additive effect on damage and yield, or interact with each other in a synergistic or antagonistic causing more and less damage, respectively (Edin et al., 2019; Vikeftoft et al., 2020). Root lesion nematodes act intracellularly in the root cortex and create a pathway by breaking the cell wall with their stylet (Castillo and Vovlas, 2007). These breaking cells and wounds help many soilborne diseases and pests to enter the plant (Hoseini et al., 2010; Mallaiah et al., 2014). In several earlier studies, it has been reported that nematode penetration increased enzymes secreted by a soil-borne fungal pathogen in roots (Edmund and Mai, 1967; Nord-Meyer and Sikora,

1983). Soil-borne pathogen infection of roots can result in reduced host resistance, which can lead to larger nematode populations (Taheri et al., 1994; Back et al., 2002; Viketoft et al., 2020).

The aim of this study was to investigate the interaction in disease complex between *P. penetrans*, *P. thornei*, *P. neglectus* species, and *F. culmorum* on moderate resistance to *F. culmorum* wheat line and susceptible wheat cultivar in controlled conditions.

2. Material and Methods

2.1. Materials

Three root-lesion nematode species, *Pratylenchus penetrans*, *P. thornei*, *P. neglectus*, collected from Isparta province, were purified. Morphological-molecular identifications of these root-lesion nematode species were made by Söğüt and Devran (2011). The cultures of these species are preserved under laboratory conditions, and the mass production of carrot cultures was continued at regular intervals. *Fusarium culmorum* B4 isolate originated from Adana province (Arıcı, 2006) was used in the study. *Fusarium culmorum* isolate was reisolated periodically to prevent loss of pathogenicity. Wheat variety 2-49 Moderate resistant to *F. culmorum* wheat line used breeding material of *F. culmorum*, spring and bread wheat line (Erginbas-Orakci et al., 2016 and 2018) were provided from CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center). Susceptible İközce wheat cultivar was obtained from the Department of Crop Sciences in ISUBU (Isparta University of Applied Sciences).

2.2. Nematode inoculum

Mass cultures of *Pratylenchus penetrans*, *P. thornei*, and *P. neglectus* were reproduced and maintained on carrot disks (Zuckerman et al., 1985). Root lesion nematode with carrots transferred to 12 cm diam petri dishes by cutting into small pieces and added sterilized water, then waited for approximately 6 hours for nematode extraction. Nematodes were extracted by using 38 and 20 µm sieve into a centrifuge tube. Nematode inoculum composed of larvae+adults was counted under the light microscope, and a thousand larvae + adult nematodes were prepared to use in the experiments.

2.3. *Fusarium culmorum* spore suspension

In the first step, 120 g rye grains were weighed in the jar and added pure water, and then waited for 24 hours. In the second stage, these jars were autoclaved at 1.2 atm for sterilization for 20 minutes and taken to room temperature to cool. In the third step, jars were kept for two days by a stretched-film cover. Then *F. culmorum* was detected previously pure cultured into potato dextrose agar and was inoculated with 10 discs on rye grains per jar. The inoculated jars were incubated for 10 days. Then, these grains cultured with *F. culmorum* were taken out of the jar by mixing; 1 g sample was placed into 5 ml sterile water and filtered with a micro cloth into sterile tubes. Spore concentration was counted under the light microscope by using a hemocytometer adjusted to 2500 spores g⁻¹ soil density (Hassan et al., 2012).

2.4. Interaction between Root lesion nematodes and *Fusarium culmorum* on 2-49 moderate resistant and susceptible İközce wheat cultivars

The study was conducted between 2018-2019. Root lesion nematodes *Pratylenchus thornei*, *P. neglectus*, and *P. penetrans* and wheat lines susceptible İközce and moderate resistant 2-49 were used in all interaction experiments. All experiments were carried out under controlled conditions with 25±2 °C temperature and 60±5% relative humidity and were conducted randomized block design with 5 replicates. Wheat seeds were sown into each pot, including autoclaved ca. 200 g sandy soil. Ten days after wheat germination, wheat germination, root-lesion nematodes, or *F. culmorum* were applied to ca. 3 cm soil surface depth around the root zone with plastic pipettes. Six treatments were made up simultaneously and sequentially to determine interactions. Treatments were; untreated control (C), only *F. culmorum* inoculation (F), only root-lesion nematode inoculation (N), simultaneously inoculation of root-lesion nematode and *F. culmorum* (N+F), First *F. culmorum* inoculation- sequentially four weeks after root-lesion nematode inoculation (F+4N) and first root-lesion nematode inoculation – sequentially four weeks later *F. culmorum* inoculation (N+4F). Initial root-lesion nematode density (Pi) was 1000

eggs+larvae+adult each pot⁻¹ in all experiments. *Fusarium culmorum*, 2500 spores g⁻¹ soil were used in the experiment, then watered with tap-water according to Hasan et al. (2012). Plants were removed from soil approximately 10 weeks later and washed with tap-water. Disease severity of *F. culmorum* on the root and root collar was evaluated 0-4 disease index reported by Wildermuth and McNamara, (1994) where 0 = completely healthy, 1 = less than 25% necrosis, 2 = 25–50% necrosis, 3 = 50-75% necrosis and 4 = greater than 75% necrosis. Final root-lesion nematode density (Pf) in soil and root was determined by extraction technique of Baermann funnel and counted under the light microscope. Additionally, at the end of the study, nematode reproduction rates [PF (final) / PI (first)] were recorded.

2.5. Statistical analysis

Disease severity of *F. culmorum*, final root-lesion nematode density, the reproduction rate of each root-lesion nematode species, and plant growth parameters were determined by using SPSS 20.0 (Illionis, US.) analysis of variance (ANOVA). Treatments were compared with TUKEY to determine the differences between means at 0.05 significance levels. Also, a t-test was conducted to determine whether the susceptibility of the wheat was important in the evaluation parameters of each application (p≤0.05).

3. Results

3.1. Interaction effect of *Pratylenchus neglectus* and *Fusarium culmorum* B4 isolate

In this study, it was found that N+4F treatment had the lowest disease severity with 1.8, and statistically, the difference was determined between F, N+F, and F+4N treatments on 2-49 wheat line (p<0.05). Final nematode density and reproduction rate were close to each other in N, N+F, N+4F, and F+4N treatments on 2-49 wheat lines (p<0.05). The lowest disease severity with 2.6 indexes was observed on N+4F (P<0.05) treatment on susceptible İközce cv., while F, N+F, and F+4N had the highest disease severity with 4.0 index. The final population density and reproduction rate of *P. neglectus* in N and N+F treatment had higher than F+4N and N+4F treatments on susceptible İközce cv. Interestingly, the final nematode density and reproduction rate of N+4F treatment was found extremely low level compared to N+F treatment. In the pre-contamination application of *F. culmorum*, the population density of *P. neglectus* decreased compared to the post-contamination application statistically in the Table 1.

Table 1. Interaction effect of *Pratylenchus neglectus* and *Fusarium culmorum* B4 isolate disease complex on moderate resistant 2-49 line and susceptible İközce

Treatments ¹	2-49, Moderate resistant wheat line to <i>F. culmorum</i>			İközce, Susceptible wheat variety		
	Disease severity* ²	Final nematode density* ³ (root+200 g soil)	Reproduction rate (PF/PI)* ⁴	Disease severity* ²	Final nematode density* ³ (root+200 g soil)	Reproduction rate (PF/PI)* ⁴
N	--	3344.8±313.6 ^a	3.3±0.3 ^a	-	3755.2±303.3 ^{ab}	3.7±0.3 ^{ab}
F	2.6±0.2 ^a	-	-	4.0±0.0 ^a	-	-
N+F	2.6±0.2 ^a	3200.0±301.2 ^a	3.1±0.2 ^a	4.0±0.0 ^a	4037.6±310.7 ^a	4.0±0.3 ^a
F+4N	2.6±0.2 ^a	3141.6±247.6 ^a	3.1±0.2 ^a	4.0±0.0 ^a	2858.4±86.1 ^{bc}	2.8±0.0 ^{bc}
N+4F	1.8±0.3 ^b	3286.4±281.3 ^a	3.2±0.2 ^a	2.6±0.2 ^b	2246.4±82.8 ^c	2.2±0.0 ^c
Control	-	-	-	-	-	-

¹N: Only nematode inoculation, F: Only fungi inoculation, N+F: Simultaneously nematode and fungi inoculation, N+4F: Fungus inoculation plant 4 weeks after nematode application, F+4N: Nematode inoculation plant 4 weeks after fungi application.

²0 = completely healthy, 1 = less than 25% necrosis, 2 = 25–50% necrosis, 3 = 50-75% necrosis and 4 = greater than 75% necrosis.

³Final nematode density composed of larvae + adult in the 200 g soil and all root systems.

⁴Reproduction rate = final nematode density / initial nematode density.

⁵Letters showed statistical difference among means at 0.05 significance level.

It was determined that whether the wheat is resistant or susceptible to *F. culmorum* is important in the disease severity parameter in F, N+F, N+4F, and F+4N treatments. However, it was found that wheat's resistance and susceptibility to *F. culmorum* were important only in N+4F treatment in final nematode density and reproduction rate parameters (Table 2).

Table 2. Effect of *Fusarium culmorum* resistance on disease complex of *Pratylenchus neglectus* and *Fusarium culmorum* B4 isolate suspension

Treatment ¹	Parameter	t	df	p≤0.05
Only nematode inoculation (N)	Disease severity	-	-	-
	Final nematode density	-0.9	8	0.32
	Reproduction rate	-0.9	8	0.37
Only fungi inoculation (F)	Disease severity	-9.7	4	0.001*
	Final nematode density	-	-	-
	Reproduction rate	-	-	-
Simultaneously nematode and fungi inoculation (N+F)	Disease severity	-9.7	4	0.001*
	Final nematode density	-1.9	8	0.08
	Reproduction rate	-1.9	8	0.08
Nematode inoculation plant 4 weeks after fungi application (F+4N)	Disease severity	-9.7	4	0.001*
	Final nematode density	1.0	8	0.31
	Reproduction rate	1.0	8	0.30
Fungus inoculation plant 4 weeks after nematode application (N+4F)	Disease severity	-4.0	8	0.004*
	Final nematode density	3.5	8	0.008*
	Reproduction rate	3.4	4.4	0.02*

3.2. Interaction effect of *Pratylenchus penetrans* and *Fusarium culmorum* B4 isolate

No statistically significant difference was found among treatments on 2-49 lines in disease severity, final nematode density, and nematode reproduction rate. The disease severity was found 4.0 index in F, N+F, N+4F, and F+4N applications on İzikce cv. No statistically significant difference was found between N, F+4N, and N+4F applications in total nematode density and reproduction rate on İzikce cv (p≥0.05). Total nematode density and reproduction rate were found 3402.4 nematodes root⁻¹+200 g soil and 3.3, respectively in N+F applications that the highest value among the applications on İzikce cv. It appears that simultaneous nematode and fungus inoculation on İzikce cv affects the *P. penetrans* density positively (Table 3).

Table 3. Interaction effect of *Pratylenchus penetrans* and spore suspension of *Fusarium culmorum* B4 disease complex on moderate resistant 2-49 line and susceptible İzikce

Treatments ¹	2-49, Moderate resistant wheat line to <i>F. culmorum</i>			İzikce, Susceptible wheat variety		
	Disease severity ^{*2}	Final nematode density ^{*3} (root+200 g soil)	Reproduction rate (PF/PI) ^{*4}	Disease severity ^{*2}	Final nematode density ^{*3} (root+200 g soil)	Reproduction rate (PF/PI) ^{*4}
N	-	2200.0±203.0 ^a	2.1±0.1 ^a	-	2422.4±63.8 ^b	2.3±0.0 ^b
F	1.8±0.3 ^a	-	-	4.0±0.0 ^a	-	-
N+F	2.2±0.3 ^a	2067.6±98.5 ^a	2.0±0.1 ^a	4.0±0.0 ^a	3402.4±212.6 ^a	3.3±0.2 ^a
F+4N	1.8±0.3 ^a	2114.4±105.4 ^a	2.0±0.1 ^a	4.0±0.0 ^a	2296.0±98.4 ^b	2.2±0.0 ^b
N+4F	1.6±0.2 ^a	2109.6±104.9 ^a	2.0±0.1 ^a	4.0±0.0 ^a	2543.2±54.2 ^b	2.4±0.0 ^b
Control	-	-	-	-	-	-

¹N: Only nematode inoculation, F: Only fungi inoculation, N+F: Simultaneously nematode and fungi inoculation, N+4F: Fungus inoculation plant 4 weeks after nematode application, F+4N: Nematode inoculation plant 4 weeks after fungi application.

²0 = completely healthy, 1 = less than 25% necrosis, 2 = 25–50% necrosis, 3 = 50–75% necrosis and 4 = greater than 75% necrosis.

³Final nematode density composed of larvae + adult in the 200 g soil and all root systems.

⁴Reproduction rate = final nematode density / initial nematode density.

⁵Letters showed statistical difference among means at 0.05 significance level.

It was determined that whether the wheat is resistant or susceptible to *F. culmorum* was important in the disease severity parameter in F, N+F, N+4F and F+4N treatments. However, it was found that wheat's resistance and susceptibility to *F. culmorum* was important in N+F and N+4F treatments in final nematode density and reproduction rate parameters (Table 4).

Table 4. Effect of *Fusarium culmorum* resistance on disease complex of *Pratylenchus penetrans* and *Fusarium culmorum* B4 isolate suspension

Treatment ¹	Parameter	t	df	p≤0.05
Only nematode inoculation (N)	Disease severity	-	-	-
	Final nematode density	-1.0	8	0.32
	Reproduction rate	-1.0	8	0.32
Only fungi inoculation (F)	Disease severity	-3.8	8	0.005*
	Final nematode density	-	-	-
	Reproduction rate	-	-	-
Simultaneously nematode and fungi inoculation (N+F)	Disease severity	-4.9	8	0.001*
	Final nematode density	-5.6	8	0.00*
	Reproduction rate	-5.4	8	0.001*
Nematode inoculation plant 4 weeks after fungi application (F+4N)	Disease severity	-5.8	4	0.004*
	Final nematode density	-1.2	8	0.24
	Reproduction rate	-1.3	8	0.20
Fungus inoculation plant 4 weeks after nematode application (N+4F)	Disease severity	-9.7	4	0.001*
	Final nematode density	-3.6	8	0.006*
	Reproduction rate	-3.4	8	0.009*

3.3. Interaction effect of *Pratylenchus thornei* and *Fusarium culmorum* B4 isolate

The statistical difference was found in disease severity in N+F (2.6 indexes) and N+4F (1.6 indexes) treatments on 2-49 lines. It was determined that disease severity decreased in the N+4F treatment on the 2-49 lines. It appears that before inoculation of the *P. thornei* affects the density of *F. culmorum* on the 2-49 lines. No statistical difference was found among treatments on 2-49 lines in final nematode density and nematode reproduction rate. While the highest disease severity was found 4.0 and 3.6 indexes in N+4F and N+F treatments on İkişce cv., the lowest was found 2.2 indexes in F+4N. The final nematode density and reproduction rate on İkişce cv. were higher N and N+4F treatments than N+F and F+4N treatments. The lowest reproduction rate was found in F+4N treatment on İkişce cv. It is seen that the density of *P. thornei* decreases in all applications where fungus and nematodes are together on İkişce cv. (Table 5).

Table 5. Interaction effect of *Pratylenchus thornei* and spore suspension of *Fusarium culmorum* B4 disease complex on moderate resistant 2-49 line and susceptible İkişce

Treatments ¹	2-49, Moderate resistant wheat line to <i>F. culmorum</i>			İkişce, Susceptible wheat variety		
	Disease severity* ²	Final nematode density* ³ (root+100 g soil)	Reproduction rate (PF/PI)* ⁴	Disease severity* ²	Final nematode density* ³ (root+100 g soil)	Reproduction rate (PF/PI)* ⁴
N	-	2572.0±213.8 ^a	2.5±0.2 ^a	-	3892.0±252.3 ^a	3.8±0.2 ^a
F	2.2±0.2 ^{ab}	-	-	3.2±0.2 ^b	-	-
N+F	2.6±0.2 ^a	2608.0±215.2 ^a	2.5±0.2 ^a	3.6±0.2 ^{ab}	2296.0±274.9 ^b	2.2±0.2 ^b
F+4N	2.2±0.2 ^{ab}	2584.0±94.8 ^a	2.5±0.2 ^a	2.2±0.2 ^c	1328.0±137.6 ^c	1.3±0.1 ^c
N+4F	1.6±0.2 ^b	2521.6±194.3 ^a	2.4±0.1 ^a	4.0±0.0 ^a	2376.0±223.2 ^{ab}	2.3±0.2 ^b
Control	-	-	-	-	-	-

¹N: Only nematode inoculation, F: Only fungi inoculation, N+F: Simultaneously nematode and fungi inoculation, N+4F: Fungus inoculation plant 4 weeks after nematode application, F+4N: Nematode inoculation plant 4 weeks after fungi application.

²0 = completely healthy, 1 = less than 25% necrosis, 2 = 25–50% necrosis, 3 = 50–75% necrosis and 4 = greater than 75% necrosis.

³Final nematode density composed of larvae + adult in the 200 g soil and all root systems.

⁴Reproduction rate = final nematode density / initial nematode density.

⁵Letters showed statistical difference among means at 0.05 significance level.

It was determined that whether the wheat is resistant or susceptible to *F. culmorum* is important in the disease severity parameter in F, N+F and N+4F treatments. However, it was found that wheat's resistance and susceptibility to *F. culmorum* was important only in N and F+4N treatment in final nematode density and reproduction rate parameters (Table 6).

Table 6. Effect of *Fusarium culmorum* resistance on disease complex of *Pratylenchus thornei* and *Fusarium culmorum* B4 isolate suspension

Treatment ¹	Parameter	t	df	p≤0.05
Only nematode inoculation (N)	Disease severity	-	-	-
	Final nematode density	-3.9	8	0.004*
	Reproduction rate	-4.0	8	0.004*
Only fungi inoculation (F)	Disease severity	-3.5	8	0.008*
	Final nematode density	-	-	-
	Reproduction rate	-	-	-
Simultaneously nematode and fungi inoculation (N+F)	Disease severity	-2.8	8	0.02*
	Final nematode density	0.8	8	0.39
	Reproduction rate	0.7	8	0.45
Nematode inoculation plant 4 weeks after fungi application (F+4N)	Disease severity	0.0	8	1.00
	Final nematode density	7.5	8	0.00*
	Reproduction rate	7.3	8	0.00*
Fungus inoculation plant 4 weeks after nematode application (N+4F)	Disease severity	-9.7	4	0.001*
	Final nematode density	0.4	8	0.63
	Reproduction rate	0.4	8	0.69

4. Discussion

It was observed that wheat susceptibility of *Fusarium culmorum* directly affects disease severity according to the results of the t-test. The disease severity was found to be lower on 2-49 wheat line than İkişce cv. in all experiments. This suggests that the use of pathogen-resistant plants is important to reduce the damage caused by pathogens. However, there were differences in treatments where plant susceptibility of *F. culmorum* was important in final nematode density and reproduction rate parameters according to the results of the t-test. In the study, the resistance of the plant to the *F. culmorum* was found to be important in terms of nematode development. The final nematode density and reproduction rate changed in treatments where root lesion nematode and *F. culmorum* together on İkişce susceptible variety. Pre or post inoculation of *F. culmorum* can increase or decrease the final nematode density and reproduction rate. The wheat susceptibility of *F. culmorum* in final nematode density and reproduction rate parameters was found to be statistically significant only in N+4F treatment in *P. neglectus* and *F. culmorum* B4 disease complex, whereas it was found significant in N and F+4N treatments in *P. thornei* and *F. culmorum* B4 disease complex. Final nematode density and reproduction rate of N+4F treatment in 2-49 wheat line were higher than İkişce cv. in *P. neglectus* and *F. culmorum* B4 disease complex. In *P. thornei* and *F. culmorum* B4 disease complex, Final nematode density and reproduction rate of N treatment on 2-49 wheat line were lower than İkişce cv. However, The F+4N treatment's final nematode density and reproduction rate on İkişce cv. were lower than 2-49 wheat line. The wheat susceptibility of *F. culmorum* in final nematode density and reproduction rate parameters were found to be statistically significant in N+F, and N+4F treatments in *P. penetrans* and *F. culmorum* B4 disease complex and final nematode density and reproduction rate of N+F treatment on 2-49 wheat line were lower than İkişce cv. However, The N+4F treatment's final nematode density and reproduction rate on İkişce cv were higher than 2-49 wheat lines. As reported by Castillo et al. (2003) the reaction of two different *Meloidogyne artiellia* populations with partially and very resistant chickpea lines and cultivars were investigated under controlled conditions. They found that *M. artiellia* infection generally significantly increased the severity of Fusarium wilt in partially resistant genotypes, but in highly resistant lines, it was determined that the resistance could be broken with increasing fungal inoculum density in the presence of nematodes. In the presence of Root lesion nematodes on 2-49 wheat line, no increases in disease severity was determined, and it was found that the resistance of *F. culmorum* was not broken. Ahmadi et al. (2021) investigated the interactions among *Heterodera filipjevi*, *F. culmorum*, and drought on a set of wheat germplasm with differing levels of resistance/tolerance to cereal cyst nematode, crown rot, and drought. They found that co-occurrence of water stress and *H. filipjevi* increased the cyst density of wheat plants, particularly in accessions susceptible to *Heterodera*, while co-inoculation of *F. culmorum* and *H. filipjevi* reduced cyst density. Also, 2-49 (resistant to *F. culmorum*) plants were the least affected in all treatments of *H. filipjevi* and *F. culmorum*. The simultaneous nematode and fungus inoculation in

the disease complex affected the positively of *P. neglectus* density on İközce cv., whereas a negative effect was found in pre or post inoculation of *F. culmorum* treatments. *Pratylenchus penetrans* density increased nematode and fungus inoculation on İközce simultaneously. In *P. thornei* and *F. culmorum* disease complex, the nematode density and reproduction rate decreased in all treatments where fungus and nematodes were together on İközce. No interaction was detected between *P. thornei*, *P. penetrans*, *P. neglectus* species, and *F. culmorum* on 2-49 wheat lines. Root lesion nematodes were found to reproduce on İközce cv. wheat variety and 2-49 wheat line. However, the development of *F. culmorum* differentiated on İközce cv. and 2-49, and these differences affected the interaction between nematodes and fungi. This result shows that the density of *F. culmorum* is important in the interaction between nematodes and fungi.

In the present study, while there was no change in final nematode density of *P. neglectus* and *P. thornei* in *F. culmorum* was applied 4 weeks after the nematode treatment (N+4F) compared to only nematode inoculation on 2-49 wheat lines, it was observed that disease severity decreased. However, on İközce cv., the final nematode density of *P. neglectus* decreased in N+4F treatment compared to only nematode inoculation, and accordingly, disease severity was found decreased. In contrast, the disease severity decreased in *P. thornei* inoculation 4 weeks after the application of *F. culmorum* (F+4N), increased in N+4F treatment on İközce cv. Interestingly, it was determined that *P. thornei* final nematode density was lower than only *P. thornei* treatment in N+4F and F+4N treatments. It was determined that *P. thornei* had a positive effect on disease severity when it entered the plant simultaneously and before the *F. culmorum*. Hajihassani et al. (2013) investigated the interactions of *Heterodera filipjevi* and *F. culmorum* at different inoculation times in the Sardari winter wheat variety in 2009 and 2010 under field conditions, and it was observed that the nematode was suppressed in *H. filipjevi* application 4 weeks after the *F. culmorum* application. Hassan et al. (2012) have investigated the interaction of *H. avenae* and *F. culmorum* in Sham 3 durum wheat under greenhouse conditions, and as a result of the experiment, it was stated that which organism entered the plant first was important. It was found that *P. sudanensis* was adversely affected when *F. oxysporum* inoculated before nematode (Saadabi and Yassin 2007).

Differences have been determined among Root lesion nematode species in nematode-fungus interaction. The different pathogenicity of nematode species, cuticle permeability, and biochemical differences between nematode species may have affected this situation. When only N applications were examined, the reproductive rate of *P. penetrans* was found to be lower than *P. neglectus* and *P. thornei*. While parthenogenesis is observed in most of the *Pratylenchus* species, sexual reproduction is observed in *P. penetrans* (Castillo and Vovlas, 2007). Previous studies revealed that there was biodiversity in terms of pathogenicity even among populations of the same species, including *P. brachyurus* (Payan and Dickson, 1990), *P. goodeyi* and *P. penetrans* (Hafez et al., 1999), and *P. vulnus* (Pinochet et al., 1994) species are reported (Mudiope et al., 2004). Göze Özdemir (2021) reported that two out of five populations of *P. thornei* had a higher reproduction rate. Furthermore, it has been reported that the cuticle of nematode species affects the penetration of compounds and that biochemical differences between nematode species cause detoxification or degradation of these compounds (Tsoo and Yu, 2000). In the present study, While *P. neglectus* and *P. penetrans* were synergistically in relationship with *F. culmorum* in simultaneous nematode and fungus inoculation, *P. thornei* was an antagonistic relationship with *F. culmorum* in all treatments. Riedel et al. (1985) and Bowers et al. (1996) reported that *Verticillium dahliae* developed in the presence of the *P. penetrans* population in potatoes; however, it did not disease formation with *P. crenatus* and *P. scribneri* presences. Hafez et al. (1999) reported that the *P. neglectus* population in Canada had a synergistic relationship with *V. dahliae*, whereas the Parma and Idaho populations did not have a disease complex with *V. dahliae* and had no yield losses. Bhattarai et al. (2009) found that *Rhizoctonia solani* damage increased in the combination of *Globodera pallida* with *R. solani* or *G. rostochiensis* with *R. solani*, and stem canker index increased significantly in co-inoculation with *G. pallida* and *R. solani* compared with *R. solani* alone.

The results of this study clearly show that the interaction between Root lesion nematode species and *F. culmorum* was affected by multiple factors and synergistic or antagonistic interaction changes according to the treatments difference. Unlike previous studies was found disease severity of *F. culmorum* did not increase in the presence of the Root lesion nematode species in all treatments on İközce wheat in the study. The density of *F. culmorum* used in the study may have also been effective in this result. The interaction effect may change with increasing fungal inoculum densities, which constitutes a separate study subject. Gao et al. (2006) found that reproduction of *Heterodera glycines*

was significantly reduced by high levels of *F. solani*, and severe root necrosis was observed when soybean plants were co-inoculated. In addition, it was determined that *F. culmorum* was effective on nematode density on İkiçizce cv. Here, the plant defense mechanism should not be overlooked. The reason why the treatment priority of the organism (nematode or fungus) was important in interaction on İkiçizce may be that the secretions of the organism entering the plant first act as an effector and stimulate the plant defense mechanism. Also, the fact that no interaction could be determined between *F. culmorum* and Root lesion nematodes species on 2-49 wheat line once again showed the importance of plant resistance in control.

In this study, it was shown that both organisms cause significant yield loss in cultivated cereal areas. It is important to consider both pathogens when designing control methods. The priority is to prevent the contamination of the field and the spread of the two organisms. It is seen that it is important to suppress both with early applications in disease complexes. Therefore, are recommended different methods should be established to suppress the population of both pathogens in the field.

Acknowledgement

This study was produced by a part of the PhD thesis of the first author accepted by Isparta University of Applied Sciences, The Institute of Graduate Education, Department of Plant Protection on 02.01.2020 and was supported by Isparta University of Applied Sciences Teaching Staff Training Program, Scientific Research Unit, Isparta, Turkey, Project No: OYP05551-DR-14. It presented as an oral presentation at International Agricultural Science Congress, 19-22 October 2017, Afyon, TURKEY. We would like to thank D. Gül Erginbaş-Orakçı and CIMMYT organization providing to 2-49 wheat line.

References

- Ahmadi, M., Mirakhorli, N., Erginbas-Orakci, G., Ansari, O., Braun, H. J., Paulitz, T., & Dababat, A. A. (2021). Interactions among cereal cyst nematode *Heterodera filipjevi*, dryland crown rot *Fusarium culmorum*, and drought on grain yield components and disease severity in bread wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1-17.
- Armstrong, J. S., Pear, F. B., & Pilcher, S. D. (1993). The Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) and the Lesion Nematode (*Pratylenchus thornei*) on Winter Wheat. *Journal Of The Kansas Entomological Society*, 66(1), 69-74.
- ARICI, Ş. E. (2006). In vitro selection for resistans to head blight (*Fusarium* spp.) via somaclonal variation in wheat (*Triticum aestivum*). Phd Thesis, University of Çukurova Institute of Natural and Applied Sciences Department of Plant, Adana.
- Back, M. A., Haydock, P. P. J., & Jenkinson, P. (2002). Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soil-borne pathogens. *Plant pathology*, 51(6), 683-697.
- Bağcı, S. A., Hekimhan, H., Mergoum, M., Aktaş, H., Taner, S., Tulukçu, E., & Ekiz, H. (2001). Effects of root and root rot of sprout factors on the yield of some grain genotypes and identification of durability sources. Turkey 4th Field Crops Congress, 17-21 September, Tekirdağ, Turkey.
- Bhatarai, S., Haydock, P., Back, M., Hare, M., & Lankford, W. (2009). Interactions between the potato cyst nematodes, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, and soilborne fungus, *Rhizoctonia solani* (AG3), diseases of potatoes in the glasshouse and the field. *Nematology*, 11, 631-640.
- Bowers, J. H., Nameth, S. T., Riedel, R. M., & Rowe, R. C. (1996). Infection and colonization of potato roots by *Verticillium dahliae* as affected by *Pratylenchus penetrans* and *P. crenatus*. *Phytopathology*, 86(6), 614-621.
- Braun, H. J., Atlin, G., & Payne, T. (2010). Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. *Climate change and crop production*, 1, 115-138.
- Castillo, P., Navas-Cortés, J. A., Gomar-Tinoco, D., Di Vito, M., & Jiménez-Díaz, R. M. (2003). Interactions between *Meloidogyne artiellia*, the cereal and legume root-knot nematode, and *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris race 5 in chickpea. *Phytopathology*, 93(12), 1513-1523.

- Castillo, P., & Vovlas, N. (2007). *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Nematology Monographs & Perspectives Vol. 6, Brill, Leiden, the Netherlands, 529 pp.
- Edin, E., Gulsher, M., Andersson Franko, M., Englund, J. E., Flöhr, A., Kardell, J., & Viketoft, M. (2019). Temporal interactions between root-lesion nematodes and the fungus *Rhizoctonia solani* lead to reduced potato yield. *Agronomy*, 9 (7), 361-378.
- Edmund, J. E., & Mai, W. F. (1967). Effect of *Fusarium oxysporum* on movement of *Pratylenchus penetrans* toward alfalfa roots. *Phytopathology*, 57(5), 468.
- El-Borai, F. E., Duncan, L. W., & Graham, J. H. (2002a). Eggs of *Tylenchulus semipenetrans* inhibit growth of *Phytophthora nicotianae* and *Fusarium solani* in vitro. *Journal of Nematology*, 34(3), 267.
- El-Borai, F. E., Duncan, L. W., & Graham, J. H. (2002b). Infection of citrus roots by *Tylenchulus semipenetrans* reduces root infection by *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Nematology*, 34(4), 384.
- Erginbas-Orakci, G., Morgounov, A., & Dababat, A. A. (2018). Determination of resistance in winter wheat genotypes to the dryland root rots caused by *Fusarium culmorum* in Turkey. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4(2), 193-202.
- Erginbas-Orakci, G., Poole, G., Nicol, J. M., Paulitz, T., Dababat, A. A., & Campbell, K. (2016). Assessment of inoculation methods to identify resistance to *Fusarium* crown rot in wheat. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 123(1), 19-27.
- Gao, X., Jackson, T. A., Hartman, G. L., & Niblack, T. L. (2006). Interactions between the soybean cyst nematode and *Fusarium solani* f. sp. *glycines* based on greenhouse factorial experiments. *Phytopathology* 96 (12), 1409–1415.
- Ghaderi, R., Karegar, A., Banihashemi, Z., & Taghavi, M. (2010). Distribution and population fluctuation of root-lesion nematodes, *Pratylenchus* spp., in irrigated wheat and corn fields in Marvdasht, Fars province. *Iran Journal of Plant Pathology*, 45, 95–98.
- Göze Özdemir, F. G., Arıcı, Ş. E., Yaşar, B., & Elekçioğlu, I. H. (2018). Effect of *Fusarium culmorum* spore suspension on mortality of root lesion nematodes in vitro conditions. *Black Sea Journal of Agriculture*, 1(2), 29-33.
- Göze Özdemir, F. G., Yaşar, B., & Arıcı, Ş. E. (2021). Interaction between culture filtrates of *Fusarium culmorum* isolates and some root lesion nematodes. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(1), 85-91.
- Göze Özdemir, F. G. (2021). Reproductive fitness of five *Pratylenchus thornei* populations from Isparta Province in Turkey on sterile carrot discs, wheat and barley cultivars. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(1), 7-11.
- Gözel, U., 2001. Researches on plant parasitic nematodes found in wheat fields in the East Mediterranean Region. Institute of Natural Applied Sciences, University of Çukurova, (Unpublished) PhD thesis, Adana, Turkey, 129 pp.
- Hafez, S.L., Al-Rehiyani, S., Thornton, M., & Sundararaj, P. (1999). Differentiation of two geographically isolated populations of *Pratylenchus neglectus* based on their parasitism of potato and interaction with *Verticillium dahliae*. *Nematropica*, 29(1), 25-36.
- Hajihassani, A., Maafi, Z. T., & Hosseininejad, A. (2013). Interactions between *Heterodera filipjevi* and *Fusarium culmorum*, and between *H. filipjevi* and *Bipolaris sorokiniana* in winter wheat. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 120 (2), 77-84.
- Hassan, G. A., Al-Assas, K., & Abou Al-Fadil, T. (2012). Interactions between *Heterodera avenae* and *Fusarium culmorum* on yield components of wheat, nematode reproduction and crown rot severity. *Nematropica*, 42 (2), 260-266.
- Hekimhan, H., Bağcı, S. A., Nicol, J., Arisoy, R. Z., & Taner, S. (2004). Dryland Root Rot : a major threat to winter cereal production under sub-optimal growing conditions. 4th International Crop Science Congress, 27 September-01 October, Brisbane, Australia.
- Hestbjerg, H., Felding, G., & Elmholt, S. (2002). *Fusarium culmorum* infection of barley seedlings: correlation between aggressiveness and deoxynivalenol content. *Journal of Phytopathology*, 150(6), 308-312.
- Hoseini, S. M. N., Pourjam, E., & Goltapeh, E. M. (2010). Synergistic studies on interaction of nematode-fungal system of tea plant in Iran. *Journal of Agricultural Technology* 6(3), 487-496.

- Köycü, N. D., & Sukut, F. (2018). Effect of unregistered fungicides to *Fusarium culmorum* on wheat. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 15(2), 26-35.
- Llorens, A., Hinojo, M. J., Mateo, R., Gonzalez-Jaen, M. T., Valle-Algarra, F. M., Logrieco, A., Jiménez, M. (2006). Characterization of *Fusarium* spp. isolates by PCR-RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rRNA gene (rDNA). *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 297-306.
- Mallaiah, B., Muthamilan, M., Prabhu, S., & Ananthan, R. (2014). Studies on interaction of nematode, *Pratylenchus delattrei* and fungal pathogen, *Fusarium incarnatum* associated with crossandra wilt in Tamil Nadu, India. *Current Biotica*, 8(2), 157-164.
- Miedaner, T., Cumagun, C. J. R. & Chakraborty, S. (2008). Population genetics of three important head blight pathogens *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* and *F. culmorum*. *Journal of Phytopathology*, 156(3), 129-139.
- Mokrini, F., Waeyenberge, L., Viaene, N., Andaloussi, F. A., & Moens, M. (2016). Diversity of root-lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) associated with wheat (*Triticum aestivum* and *T. durum*) in Morocco. *Nematology*, 18 (7), 781-801.
- Nicol, J. M., & Ortiz-Monasterio, I. (2004). Effects of the root-lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, on wheat yields in Mexico. *Nematology*, 6(4), 485-493.
- Nicol, J. M., & Rivoal, R. (2008). Global knowledge and its application for the integrated control and management of nematodes on wheat. In *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes* (pp. 251-294). Springer, Dordrecht.
- Nord-Meyer, D., & Sikora, R. A. (1983). Studies on the interaction between *Heterodera daverti*, *Fusarium avenaceum* and *F. oxysporum* on *Trifolium subterraneum*. *Revue de Nematologie*, 6 (2), 193-8.
- Poole, G.J., Smiley, R. W., Paulitz, T. C., Walker, C. A., Carter, A. H., See, D. R. & Garland-Campbell, K. (2012). Identification of quantitative trait loci (QTL) for resistance to *Fusarium* crown rot (*Fusarium pseudograminearum*) in multiple assay environments in the Pacific Northwestern US. *Theoretical and Applied Genetics*, 125(1), 91-107.
- Poornima, K., Angappan, K., Kannan, R., Kumar, N., Kavino, M. & Balamohan, T. N. (2007). Interactions of nematodes with the fungal Panama wilt disease of banana and its management. *Nematologia Mediterranea*, 35(1), 35-39.
- Riedel, R. M., Rowe, R. C., & Martin, M. J. (1985). Differential interactions of *Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus penetrans*, and *Pratylenchus scribneri* with *Verticillium dahliae* in potato early dying disease. *Phytopathology*, 75(4), 419-22.
- Saadabi, A. M., & Yassin, A. M. (2007). Role of *Pratylenchus sudanensis*, a root-lesion nematode in the syndrome of cotton wilt in Gezira area of Sudan. *Agricultural Journal* 2, 415-418.
- Sankaralingam, A., & McGawley, E. C. (1994). Interrelationships of *Rotylenchulus reniformis* with *Rhizoctonia solani* on cotton. *Journal of Nematology*, 26(4), 475.
- Smiley, R. W., Whittaker, R. G., Gourlie, J. A., & Easley, S. A. (2005). Suppression of wheat growth and yield by *Pratylenchus neglectus* in the Pacific Northwest. *Plant Disease* 89 (9), 958-968.
- Smiley, R. W. & Nicol, J. M. (2009). Nematodes which challenge global wheat production. In *Wheat: Science and trade*. (pp. 171-187).
- Söğüt, M. A., & Devran, Z. (2011). Distribution and Molecular Identification of Root Lesion Nematodes in Temperate Fruit Orchards of Turkey. *Nematropica*, 41(1), 91-99.
- Taheri, A., Hollamby, G. J., Vanstone, V. A. & Neate, S.M. (1994). Interaction between root lesion nematode, *Pratylenchus neglectus* (Rensch 1924) Chitwood and Oteifa 1952, and root rotting fungi of wheat. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 22(2), 181-185.
- Toktay, H., 2008. Resistance of Some Spring Wheat Against *Pratylenchus thornei* Sher Et Allen Tylenchida: Pratylenchidae. PhD Thesis, University of Cukurova, Institute of Nature of Science, Adana, Turkey, 117 pp.
- Viketoft, M., Flöhr, A., Englund, J. E., Kardell, J., & Edin, E. (2020). Additive effect of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* and the fungus *Rhizoctonia solani* on potato yield and damage. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127(6), 821-829.
- Yan, G., Smiley, R. W., & Okubara, P. A. (2010). Identification and quantification of *Pratylenchus neglectus* and *P. thornei* from soils in the Pacific Northwest using real-time polymerase chain reaction. *Journal of Nematology*, 42, 277-278.

- Yavuzaslanoglu, E., Elekcioglu, I. H., Nicol, J. M., Yorgancilar, O., & Hodson, D. (2012). Distribution, frequency and occurrence of cereal nematodes on the Central Anatolian Plateau in Turkey and their relationship with soil physicochemical properties. *Nematology*, 14 (7), 839-854.
- Yavuzaslanoglu, E., Karaca, M. S., Sönmezoğlu, Ö. A., Öcal, A., Elekcioglu, I. H. & Aydoğdu, M. (2020). Occurrence and abundance of cereal nematodes in Konya and Karaman Provinces in Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 44 (2), 223-236.
- Yüksel, H.Ş. 1974. Doğu Anadolu'da tespit edilen Pratylenchus türlerinin dağılışı ve bunlar üzerinde sistematik çalışmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Dergisi*, 4, 53-71.
- Zuckerman, B. M., Mai, W. F., & Harrison, M. B. (1985). Plant Nematology Laboratory Manual. The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherst, Massachusetts 01003, pp. 212.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Genetic Variation, Heritability, Principal Component Analysis, Correlation and Path Coefficient Analysis in the Fruit Samples of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Genotypes

Sanjay KUMAR^{*1}, Asikho KISO², Lima ASENLA³

¹Banaras Hindu University, Department of Botany, Varanasi 221005, India

^{2,3}Nagaland University, Department of Botany, Lumami 798627, India

¹<https://orcid.org/0000-0003-4463-9159>, ²<https://orcid.org/0000-0003-1976-5751>, ³<https://orcid.org/0000-0002-8610-258X>

*Corresponding author e-mail: sanjaykumarnew.2021@gmail.com

Article Info

Received: 18.11.2021

Accepted: 02.03.2022

Online published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1025466

Keywords

Correlation,
Heritability,
Path coefficient,
Principal coefficient analysis

Abstract: Genetic diversity, heritability, the genetic advance of yield, and associated traits are some important criteria to generate some basic information related to the genetic improvement of crops. Some characters of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. genotype fruits have been evaluated for their improvement purpose. Genotypes and fruit samples of *Sechium* were randomly collected for fruit traits such as length (FL), width (FW), circumference/girth (FC), and the number of ridges (FR) from the various parts of village Kigwema of Kohima district, Nagaland at a mean value of latitude (25.60690 N), longitude (94.34250 E) and altitude (1538 masl) for the purpose. Genotypes and fruit samples collection for trait study normally distributed in histogram plot and normality test. Analysis of variance (ANOVA) estimated significant differences in fruit sample traits. The phenotypic coefficient of variation (PCV) was greater than the genotypic coefficient of variation (GCV) for all the traits. The phenotypic and genotypic coefficient of variation was recorded maximum for trait fruit length, while maximum heritability was recorded for trait fruit circumference. High heritability and high genetic advance estimates for fruit circumference suggest that it could be considered for further improvement through various breeding programs. Principle component analysis (PCA) showed that fruit length and fruit ridges numbers are responsible for most of the variations observed in the fruit morphology and could be considered for its improvement. Fruit width recorded maximum for correlation coefficient direct value indicated towards effect on the fruit circumference and direct selection of the trait for its improvement.

To Cite: Kumar S, Kiso A, Asenla, L, 2022. Genetic Variation, Heritability, Principal Component Analysis, Correlation and Path Coefficient Analysis in the Fruit Samples of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Genotypes. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 164-174.

DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1025466>

***Sechium edule* (Jacq.) Sw Genotiplerinin Meyve Örneklerinde Genetik Varyasyon, Kalıtım, Temel Bileşen Analizi, Korelasyon ve Yol Katsayısı Analizi**

Makale Bilgileri

Geliş: 18.11.2021

Kabul: 02.03.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1025466

Özet: Genetik çeşitlilik, kalıtsallık, verim ve verime bağlı özelliklerde genetik ilerleme, ürünlerin genetik iyileşmesi ile ilgili bazı önemli bilgileri üretmek için önemli kriterlerdir. Bu çalışma, *Sechium edule* (Jacq.) Sw. genotiplerine ait meyvelerin bazı özelliklerini iyileştirme amacıyla yapılmıştır. *Sechium edule* (Jacq.) Sw. genotiplerine ait meyveler, Nagaland Kohima iline bağlı Kigwema

Anahtar Kelimeler

Korelasyon,
Kalıtım,
Yol katsayısı,
Temel katsayı analizi

köyünün (25.60690 N, 94.34250 E) çeşitli yerlerinden rastgele toplanmıştır. Genotiplerde; uzunluk (FL), genişlik (FW), çevre/çevre (FC) ve sırt sayısı (FR) özellikleri değerlendirilmiştir. Genotipler ve meyve örnekleri histogram grafiğinde ve normallik testinde normal olarak dağıtılmıştır. Varyans analizi (ANOVA) sonucunda, meyve özelliklerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Tüm özellikler için, fenotipik varyasyon katsayısı (PCV), genotipik varyasyon katsayısından (GCV) daha yüksek bulunmuştur. Fenotipik ve genotipik varyasyon katsayısı, meyve uzunluğunda, kalıtım derecesi ise meyve çevresinde maksimum değere ulaşmıştır. Meyve çevresi için yüksek kalıtsallık ve yüksek genetik ilerleme tahminleri, bunun çeşitli ıslah programları yoluyla daha fazla iyileştirme için kullanılabileceğini düşündürmektedir. Temel bileşen analizi (PCA), meyve morfolojisinde gözlemlenen varyasyonların çoğunda meyve uzunluğu ve meyve sırt sayılarından sorumlu olduğunu ve bunların gelişimi için değerlendirilebileceğini göstermiştir. Meyve eni, meyve çevresi ve gelişimi için bu özelliğin seçimine yönelik olarak belirtilen korelasyon katsayısı doğrudan değer için maksimum kaydedilmiştir.

1. Introduction

Nature fulfills every need of human beings and grows various plants with economic importance. Most of the plants in nature are unexplored and gathering information on nature and its variation is an important criterion to select a genotype with desirable traits for a successful plant breeding program (Dyulgerova and Valcheva, 2014; Ipek and Balta, 2020). *Sechium edule* (Jacq.) Sw., Cucurbitaceae, is a nutritious crop, mostly uses matured fruit as vegetables and boiled salads. The demands of various cucurbitaceous vegetables by the people in the society caused to increase the production of such important crops. Therefore to achieve the target, information on genetic variability, heritability, the genetic advance of yield, and associated traits is essentially important.

Regression is an estimation of the linear relationship between a dependent variable and one or more independent variables (Vrbik, 2018). Also, it is a test method to observe data is approximately normally distributed (Dimitrova et al., 2020). Plotting a histogram of the variables of interest indicated the shape of normally distributed data, and test of normality is performed and confirmed through Q-Q plots and Kolmogorove-Smirnov and Shapiro-Wilk's W test in SPSS ver. 16 (Kolmogorove, 1933; Smirnov, 1948; Shapiro and Wilk, 1965).

Analysis of variance (anova) is generally used to ensure whether the means of two or more groups of samples are significantly differ or not from each other (Turkheimer, 2015). Heritability and agronomic characteristics are important traits that may be utilized to estimate and improve the yield of crops successfully. Falconer and Mackey (1996) defined heritability as the measure of correspondence between breeding values and phenotypic values. Heritability plays a predictive role in breeding and expresss its dependability on phenotype, which guides its breeding value (Wray and Visscher, 2008). Genetic advance is a direct relationship between heritability and response to selection. High genetic advance with high heritability estimates the most effective condition for selection (Moore and Shenk, 2017). Heritability is, therefore important, and its application increases when a genetic advance is calculated as it indicates the gain in character obtained under particular selection pressure. Therefore, genetic advance is an important selection parameter that helps in the selection breeding program.

The correlation procedure calculates the correlation between variables and measures the strength of the linear relationship between two variables. The knowledge of the relationship between genetic and phenotypic data is important and valuable when the traits are considered for selection.

Path coefficient analysis allows an effective means of partitioning correlation coefficients into the unidirectional pathway and alternative pathways. This analysis permits a critical examination of specific factors that produce a given correlation and can be successfully employed in formulating an effective strategy (Okuyama et al., 2004).

Principal component analysis (PCA) is a mathematical procedure to transform, possibly a large number of correlated variables into a smaller number of uncorrelated variables, usually known as principal components (Chatfield and Collis, 1980). The first principal component (PC1) accounts for as much of the variability in the data as possible, and each succeeding component (PC2, PC3, PC4 etc.) accounts for as much of the remaining variability as possible. The objective of the PCA is to discover

or reduce the dimensionality of the data set and to identify new meaningful causal variables (Jolliffe, 2002).

The purpose of cluster analysis is to discover a system of organizing observations where members of the group share specific properties in common. Cluster analysis is a class of techniques that classifies cases into groups that are relatively homogeneous within themselves and relatively heterogeneous between each other (Yim and Ramdeen, 2015).

So, the purpose of the present study is to generate some basic information, using standard statistical methods such as analysis of variation, correlation, regression, path correlation coefficient analysis, principal component analysis, cluster, and factor analysis to differentiate and assess the variations, heritability (broad sense), genetic advance, yield and contribution through direct and indirect effects of some important traits on the total variation of genotypes for the further genetic improvement of the crop.

2. Material and Methods

2.1 Plant materials

The twelve genotypes of *Sechium* were randomly collected from randomized complete block design at Kigwema village of Kohima district, Nagaland, with a mean value of latitude (25.60690 N), longitude (94.34250 E), and altitude (1538 masl). The mean values of 5 fruits from each genotype of 3 randomized complete block designs were used for quantitative traits such as length, width, circumference/girth, and the number of ridges for further analysis.

2.2 Methods

2.2.1 Regression and data normality test

Regression analysis is a statistical technique applied to draw a relationship among interrelated variables and analyzed using SPSS ver. 16 as suggested by Landau and Everitt (2004). The genotypes fruit samples quantitative traits were regressed against the genotypes, and the histogram plot suggested the normal distribution and shape of data. Test of normality was performed in SPSS ver. 16 and suggested the Shapiro-Wilk test, which is sensitive and more appropriate for smaller samples than the Kolmogorove-Smirnov test.

2.2.2 Analysis of variance

Analysis of variance (ANOVA) was carried out using procedures explained for SPSS ver. 16 by Landau and Everitt (2004). Genotypic and phenotypic coefficients of variability were estimated using the formula given by Burton and Devane (1953).

$$PCV = \frac{\sqrt{\sigma^2 p}}{\bar{x}} \times 100 \quad (1)$$

$$GCV = \frac{\sqrt{\sigma^2 g}}{\bar{x}} \times 100 \quad (2)$$

Where,

PCV=phenotypic coefficient of variation

GCV=genotypic coefficient of variation

$\sigma^2 p$ = phenotypic variance= $\sigma^2 g + \sigma^2 e$

$\sigma^2 g$ = genotypic variance= (mean sum of squares due to genotypes – error mean sum of squares) ÷ replications

$\sigma^2 e$ =environmental variance= (error mean sum of squares)÷replications

\bar{x} =general mean

PCV and GCV values were classified low (<10%), moderate (10-20%), and high (>20%) as suggested by Sivasubramanian and Menon (1973).

2.2.3 Heritability (broad sense), genetic advance, and genetic advance mean percent

Heritability in the broad sense (H^2) was estimated as per the formula suggested by Allard (1960).

$$H^2 = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_p} \times 100 \quad (3)$$

The heritability was categorized as low (0-30%), medium (31-60%), and high (61% and above) according to Johnson et al., 1955.

Genetic advance estimated according to Allard (1960).

$$GA = K \times \sigma_p \times H^2 \quad (4)$$

Where,

K =selection differential at 5% selection intensity, which accounts for a constant value 2.06

σ_p =phenotypic standard deviation

Genetic advance over mean (GAM) is expressed in percentage and calculated using the following formula.

$$GAM = \frac{GA}{\bar{x}} \times 100 \quad (5)$$

Genetic advance as percent over mean is categorized as low (<10%), moderate (10-20%) and high (>20%) according to Johnson et al., 1955.

2.2.4 Correlation and Path coefficient analysis

The Pearson correlation was performed for the quantitative traits using SPSS ver. 16 and followed Okuyama et al., 2004. Path coefficient analysis for the quantitative traits was performed in MS-Excel spreadsheet using an inbuilt statistical software package and followed the procedure of Akintunde (2012). Correlation coefficients were calculated for their direct and indirect component parts and represented in a graphical form.

2.2.5 Principal component analysis or Factor analysis

Principal component analysis (PCA) or factor analysis was performed using SPSS ver. 16, and followed the procedure suggested by Chatfield and Collis (1980). PCA is used to calculate the initial and extracted communalities suggested the total variation by 2 major components in the traits.

2.2.6 Cluster analysis

Hierarchical cluster analysis is performed for grouping the fruit sample traits and followed the procedure of Everitt et al., 2011. Cluster analysis using ward method dendrogram suggested the 2 groups of quantitative traits of fruit samples

3. Results

The quantitative traits data of *Sechium* fruit samples are normally distributed as suggested by the histogram plot with normal bell-shape and test of normality where Shapiro-Wilk statistics are more towards normal distribution than Kolmogorov-Smirnov statistics at $p \leq 0.05$ (Karney, 2016). Shapiro-Wilk test is more sensitive towards outliers and smaller data samples (Shore, 2012 and 2011). Therefore, normality could be assumed for the data; as a result, any other test assumptions may be satisfied, and finally, an appropriate parametric test can be used (Figure 1 and Table 1).

Analysis of variance (ANOVA) was performed for the quantitative traits of *Sechium* genotypes fruit traits, and mean value was recorded high for FC (21.7 ± 0.32) followed by FL (11.5 ± 0.31), Fwd (8.51 ± 0.15), and FR (4.73 ± 0.11) respectively are significantly differs from each other at the probability level of $p \leq 0.05$ (Table 2).

Table 1. Test of normality for quantitative data set of fruit samples

	FL	Fwd	FR	FC
Mean	11.5	8.51	4.73	21.7
Standard Error	2.43	1.21	0.88	2.53
Kolmogorove-Smirnov	0.473	0.260	0.212	0.378
p-value_{K-S}	0.001	0.007	0.009	0.019
Shapiro-Wilk	0.552	0.788	0.867	0.644
p-values_W	0.000	0.003	0.006	0.002

FL=fruit length, Fwd=fruit width, FR=fruit ridges number, FC=fruit circumference/girth.

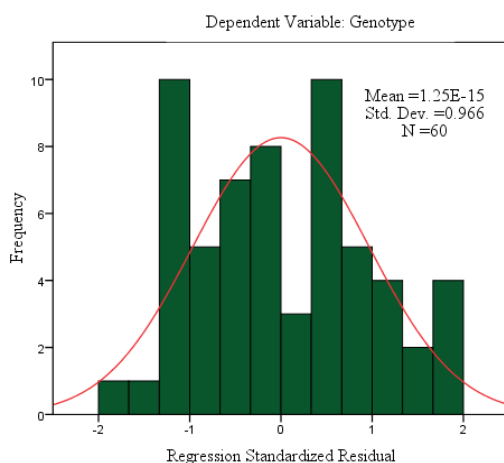


Figure1. Genotype and fruit characters histogram plot of approximately normally distributed data.

Table 2. Analysis of variance of *Sechium* fruit samples traits

Quantitative traits of fruit samples	FC	FL	Fwd	FR
Mean square within groups (error)	0.71	0.88	0.28	0.22
Mean square between groups (genotypes)	31.29	27.87	6.67	3.17
Replicates	5	5	5	5
Standard deviation	0.32	0.31	0.15	0.11
Minimum	18	6	6	3
Maximum	26	17	11	7
Range	8	11	5	4
Variance	6.417	5.915	1.474	0.775

FC=fruit circumference/girth, FL=fruit length, Fwd=fruit width, FR=fruit ridges number.

The estimates of the phenotypic and genotypic variances showed similar trend as of the mean value from ANOVA (Table 3).

Table 3. Estimates of variance, heritability and related components

Fruit traits	Vp	Vg	Ve	Vg×e	PCV%	GCV%	ECV%	H ²	GA	GAM%
FC	6.25	6.11	0.14	0.85	11.52	11.39	1.72	0.97	5.05	23.27
FL	5.56	5.39	0.17	0.91	20.50	20.18	3.58	0.96	4.80	41.73
Fwd	1.32	1.27	0.05	0.06	13.50	13.24	2.62	0.96	2.39	28.08
FR	0.63	0.59	0.04	0.02	16.78	16.23	4.22	0.93	1.68	35.51

Vp=phenotypic variance, Vg=genotypic variance, Ve=environmental variance, Vg×e=interaction of genotype and environment variance, PCV%=phenotypic coefficient of variance percent, GCV%= genotypic coefficient of variance percent, ECV%= environment coefficient of variance percent, H²= heritability (broad sense), GA=genetic advance, GAM%=genetic advance mean percent, FC=fruit circumference/girth, FL=fruit length, Fwd=fruit width, FR=fruit ridges number.

Pearson's correlation of quantitative traits of fruit samples is significant at the level of probability of significance $p \leq 0.01$ (2-tailed), and all traits are positively associated with each other (Table 4).

Table 4. Pearson's correlation for the association of quantitative fruit sample traits

Fruit traits	FC	FL	Fwd	FR
FC	1			
FL	0.600**	1		
Fwd	0.949**	0.646**	1	
FR	0.609**	0.554**	0.591**	1

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

FC=fruit circumference/girth, FL=fruit length, Fwd=fruit width, FR=fruit ridges number.

For the estimation of the partial regression coefficients or direct path coefficients, fruit trait, FC was considered as a dependent (resultant) and FL, Fwd, and FR independent (causal) variables (Table 5).

Table 5. Partial regression coefficients or direct path coefficients of causal factors

	Coefficients	S.E.	t-Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
FC(Intercept)	-0.00544	0.040600752	0.133987677	0.893892696	-0.08677308	0.075893079
FL(X1)	-0.048746146	0.055804222	0.873520747	0.386109837	-0.160535435	0.063043143
Fwd(X2)	0.927212549	0.057432332	16.14443509	9.99748E-23	0.812161764	1.042263333
FR(X3)	0.087487328	0.052839165	1.655728817	0.103370677	-0.018362238	0.193336894

Correlation coefficients into its direct and indirect component parts and path analysis and contributions of related components towards fruit sample trait, FC were estimated. Pearson correlation values are the combination of direct and indirect components of the variable relationship. The direct or indirect relationship of variables is separated out and used to draw a direction of the path and their contributions to the overall growth of the crop (Table 6 and Figure 2).

Table 6. Correlation coefficients into its direct and indirect component parts

FC vs. FL	
Direct effect of FL on FC	-0.048
Indirect effect of FL via FL on FC	-0.048 [1.000×(-0.048)]
Indirect effect of FL via Fwd on FC	0.598 (0.646×0.927)
Indirect effect of FL via FR on FC	0.048 (0.554×0.087)
Total indirect effects	0.598
Total correlation (direct+indirect effects)	0.550
FC vs. Fwd	
Direct effect of Fwd on FC	0.927
Indirect effect of Fwd via FL on FC	-0.031 [0.646×(-0.048)]
Indirect effect of Fwd via Fwd on FC	0.927 (1.000×0.927)
Indirect effect of Fwd via FR on FC	0.051 (0.591×0.087)
Total indirect effects	0.02
Total correlation (direct+indirect effects)	0.947
FC vs. FR	
Direct effect of FR on FC	0.087
Indirect effect of FR via FL on FC	-0.026 [0.554×(-0.048)]
Indirect effect of FR via Fwd on FC	0.547 (0.591×0.927)
Indirect effect of FR via FR on FC	0.087 (1.000×0.087)
Total indirect effects	0.521
Total correlation (direct+indirect effects)	0.608

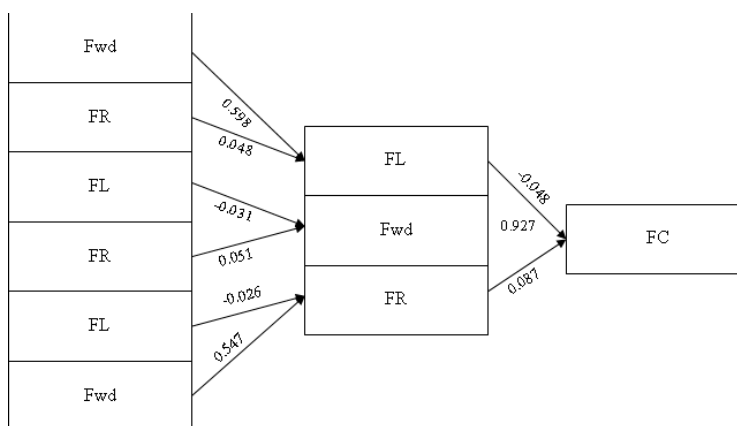


Figure 2. Path analysis and contributions of related components towards fruit sample trait, FC (MS publisher of MS word ver. 2010 was used to draw the figure).

Table 7. Anti image correlation and KMO and Bartlett’s test for the measure of sampling adequacy

Anti-image correlation				KMO and Bartlett’s test		
	FC	FL	Fwd	FR	Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy	
					0.718	
FC	0.649^a	0.116	-0.907	-0.216	Bartlett's Test of Sphericity	Approx. Chi-Square
FL	0.116	0.849^a	-0.303	-0.297		df
Fwd	-0.907	-0.303	0.645^a	0.045		Sig.
FR	-0.216	-0.297	0.045	0.883^a		0.000

Test of normality suggested that data are normally distributed and fit for test assumptions and parametric tests (Table 1). Also, in order to whether the present data are suitable for principle component analysis/factor analysis or not, anti image correlation, as well as Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) and Bartlett’s test, was performed. anti-image correlation suggested the value more than 0.600^a (diagonal value) and suitable for the measure of sample adequacy. Similarly, results are obtained in KMO and Bartlett’s test (0.718 and p -value=0.000) for the measure of sample adequacy (Table 7).

The principal component is an important multivariate analysis technique used to examine the association between characters and measures genetic diversity (Table 8-9 and Figure 3). Hierarchical cluster dendrogram using ward method for fruit characters were estimated (Figure 4).

Table 8. Principal component analysis and initial and extracted communalities

	Communalities		Component matrix ^a		Sum of squared loadings		Communalities Extracted (sum)
	Initial	Extraction	1	2	1	2	
FC	1	0.966	0.927	-0.326	0.859=(0.927) ²	0.106=(-0.326) ²	0.965
FL	1	0.719	0.801	0.278	0.641=(0.801) ²	0.077=(0.278) ²	0.718
Fwd	1	0.975	0.935	-0.318	0.874=(0.935) ²	0.101=(-0.318) ²	0.975
FR	1	0.847	0.784	0.481	0.614=(0.784) ²	0.231=(0.481) ²	0.845
		3.507			2.988	0.515	3.503

Extraction method: a principal component analysis.
^a2 components extracted.

Table 9. Factor analysis (2 components) and total variation explained

Component	Initial Eigenvalues			Extraction sums of squared loadings		
	Total	% of variance	Cumulative %	Total	% of variance	Cumulative %
1	2.991	74.767	74.767	2.991	74.767	74.767
2	0.516	12.902	87.669	0.516	12.902	87.669
3	0.446	11.141	98.810			
4	0.048	1.190	100.00			

Extraction method: Principal component analysis.

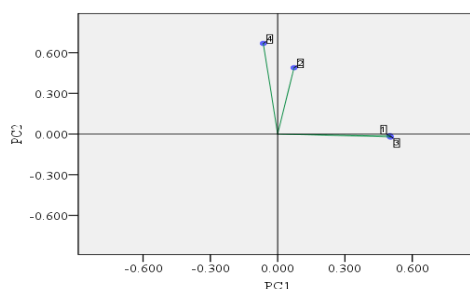


Figure 3. Principal component axes for fruit characters Rescaled Distance Cluster Combine.

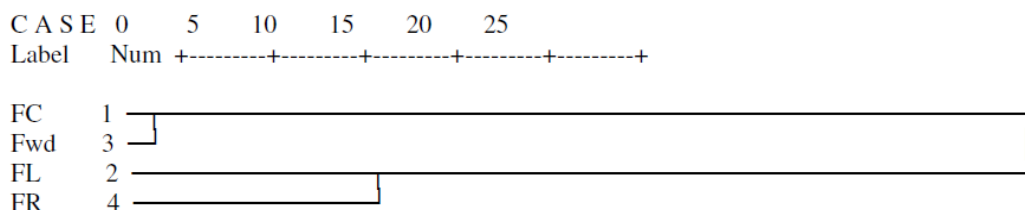


Figure 4. Hierarchical cluster dendrogram using ward method for fruit characters.

4. Discussion

Data are normally distributed and could be assumed for an appropriate parametric test as revealed from the normality test (Table 1 and Figure 1). The significant differences among and between the traits from ANOVA suggest the presence of genetic variation and provide an opportunity for the consideration of fruit samples in plant breeding improvement programs (Gelman, 2005; Dag et al., 2018). The maximum phenotypic (V_p) and genotypic (V_g) variances was estimated for FC ($V_p=6.25$; $V_g=6.11$) followed by FL ($V_p=5.56$; $V_g=5.39$), Fwd ($V_p=1.32$; $V_g=1.27$) and FR ($V_p=0.63$; $V_g=0.59$) respectively. The minimum V_p was recorded for the trait FR. As expected, the phenotypic coefficient of variation (PCV) was greater than the genotypic coefficient variation (GCV) for all the traits. A larger difference between PCV and GCV values suggests the greater environmental effects on the traits. The PCV and GCV estimate the nature and magnitude of variation and explain the variation either due to genetic or environmental causes. It was estimated maximum for FL (pcv%=20.50; gcv%=20.18) followed by FR (pcv%=16.78; gcv%=16.23), Fwd (pcv%=13.50; gcv%=13.24) and FC (pcv%=11.52; gcv%=11.39) respectively. All the traits showed smaller differences, and minimum PCV and GCV value was estimated for FC. Heritability is the proportion of genetic variance in phenotypic variance that gives information about the inheritance of traits. Traits with high heritability are easy to improve through selection, and it is recorded high for all traits in the study. The highest heritability was estimated for FC (97%), followed by FL (96%), Fwd (96%), and FR (93%), respectively. Similar results have been reported in previous studies (Turkheimer, 2011; Tester and Langridge, 2010). It is also considered that high heritability does not indicate high genetic gain always. Therefore, both heritability and genetic advance are considered together for prediction and their final effects on traits for selection (Luby et al., 2015; Johnson et al., 2011). Fruit circumference, FC showed high heritability coupled with high genetic advance. High heritability coupled with high genetic advance suggests the additive effects on the control of the particular trait (Hartung and Schiemann, 2014; Lipi et al., 2020). On the other hand, high heritability with low genetic advance indicates the non-additive effects on the control of a particular trait (Heckerman et al., 2016; Ning et al., 2020). High heritability and high genetic advance for FC suggest a good trait to consider for selection and improvement in plant breeding programs (Table 3).

Quantitative traits of fruit samples are significant at the level of probability of significance $p \leq 0.01$ (2-tailed), and all traits are positively associated with each other and indicate towards possible contribution in trait improvement. The dependent variable and independent variables in the correlation matrix for fruit sample traits are represented as Y and X1, X2, and X3, respectively (Mahdavi, 2013; Székely et al., 2007) (Table 4).

For the estimation of the partial regression coefficients, fruit sample trait, FC was considered as a dependent (resultant) and FL, Fwd, and FR independent (causal) variables. FL showed a small but negative (-0.048) and negligible direct effect on the FC. The indirect effect on FC through Fwd and FR is positive, where the Fwd effect is in considerable magnitude than FR. The total sum value of the correlation (0.550) is positive and significant at $p \leq 0.01$, which suggests that indirect selection of the trait through Fwd could be useful. Fwd showed the highest and positive (0.927) direct effect on FC. The indirect effects are negative (-0.031) through FL and positive (0.051) for FR. Both the indirect effects are small and negligible in magnitude. The total sum value of correlation (0.947) is positive and highly significant at $p \leq 0.01$, which suggests that direct selection of the trait could be useful. FR showed a positive (0.087) but small and negligible direct effect on the FC. The indirect effect is positive (0.547) and negative (-0.026) through Fwd and FL, respectively. The indirect effect through Fwd is considerable magnitude than FL. The total sum value of correlation (0.521) is positive and significant at $p \leq 0.01$, which suggests that indirect selection of the trait could be useful (Tarka, 2017; Bentler and Chih-Ping, 2016). The partial regression coefficients or direct path coefficients, direct and indirect component parts are presented in Table 5-6 and Figure 2.

The principal component is an important multivariate analysis technique used to examine the association between characters and measures the genotype/varieties genetic diversity (Esposito et al., 2007; Muradoglu et al., 2021). The result of PCA for the fruit traits of *Sechium* genotypes showed that the first two components explained 74.76% and 87.66% of the cumulative variation for fruit populations, respectively. The first component (PC1) accounts for 74.76% of total variation and is positively and highly associated with all the traits in the study called the fruit component. The second component (PC2) explained 12.90% of total variation and was positively associated with FL and FR while negatively associated with FC and Fwd (Table 7-8). The genetic variation of quantitative traits based on multivariate analysis using PCA suggests that FL and FR as the most important trait for explaining variability in the fruits of *Sechium* genotypes followed by FC and Fwd. The contribution of FL and FR was observed high in the principal component axes (Figure 3). The observation suggests that FL and FR are the major traits that explain the total variation in the fruit morphology of the *Sechium* genotypes and may be considered for further improvement. Similar results were reported in other crops by various authors (Rosso and Pagano, 2005; Chandran and Padya, 2000).

Hierarchical Cluster or dendrogram analysis of the fruit traits using ward method measured the interval with squared euclidean distance showed traits classified into 2 groups suggest the contribution towards other groups (Figure 4).

Conclusion

Fruit circumference (FC) was recorded with maximum heritability (broad sense), and genetic advance could be recommended for further improvement of the trait. Fruit length (FL) and fruit ridges (FR) numbers are responsible for fruit morphological trait variations as indicated by principal component analysis.

Acknowledgements

Both the authors are thankful to the people of Kigwema village, Kohima, for fruit sample collection and its study. Author SK conceived, designed, analyzed, performed, and wrote the paper. Author AK collected and contributed to data collection.

References

- Akintunde, A. N. (2012). Path analysis step by step using Excel. *Journal of Technical Science and Technologies*, 1(1), 9-15.
- Allard, R. W. (1960). *Principles of plant breeding*. New York: John Willey and Sons Inc.
- Bentler, P. M., & Chih-Ping, C. (2016). Practical Issues in Structural Modeling. *Sociological Methods and Research*, 16(1), 78-117.
- Burton, C. W., & Devane, E. H. (1953). Estimating heritability in tall Festuca (*Restuca arundinaceae*) from donar material. *Agron J.*, 45, 1476-1481.

- Chandran, K., & Padya, S. M. (2000). Morphological characterization of *Arachis* species of section *Arachis*. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 121, 38-41.
- Chatfield, C., & Collis. (1980). *Introduction to multivariate analysis*. Boca Raton: CRC Press.
- Dag, O., Dolgun, A., & Konar, N. M. (2018). one way tests: An R Package for One-Way Tests in Independent Groups Designs. *The R Journal*, 10 (1): 175–199.
- Dimitrova, D. S., Kaishev, V. K., & Tan, S. (2020). Computing the Kolmogorov–Smirnov distribution when the underlying cdf is purely discrete, mixed or continuous. *Journal of Statistical Software*, 95 (10), 1–42.
- Dyulgerova, B., & Valcheva, D. (2014). Heritability, variance components and genetic advance of yield and some yield related traits in Barley doubled haploid lines. *Turkish Journal Agricultural Natural Science*, 1 (special issue), 614-617.
- Esposito, M. A., Martin, E. A., Cravero, V. P., & Cointry, E. (2007). Characterization of pea accessions by SRAPs markers. *Scientia Horticulturae*, 113, 329-335.
- Everitt, B., Landau, S., Leese, M., & Stahl, D. (2011). *Cluster Analysis: Wiley series in probability and statistics*. John Wiley and sons. p.352.
- Falconer, D. S., & Mackey, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. New York: Longman.
- Gelman, A. (2005). Analysis of variance? Why it is more important than ever. *The Annals of Statistics*, 33, 1–53.
- Hartung, F., & Schiemann, J. (2014). Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. *The Plant Journal*, 78 (5), 742–752.
- Heckerman, D., Gurdasani, D., Kadie, C., Pomilla, C., Carstensen, T., Martin, H., Ekoru, K., Nsubuga R. N., Ssenyomo, G., Kamali, A., Kaleebu, P., Widmer, C., & Sandhu, M. S. (2016). Linear mixed model for heritability estimation that explicitly addresses environmental variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(27), 7377–7382.
- Ipek, P., & Balta, F. (2020). Fruit properties of rose hip (*Rosa* spp.) genotypes selected from Akkus, Ordu Province. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 30 (2), 338-344. DOI:10.29133/yyutbd.680453
- Johnson, H. W., Robinson, H. F., & Comstock, R. E. (1955). Estimation of genetic and environmental variability in soybean. *Journal of Agronomy*, 47, 314-318.
- Johnson, W., Penke, L., & Spinath, F. M. (2011). Understanding Heritability: What it is and What it is Not. *European Journal of Personality*, 25 (4), 287–294.
- Jolliffe, I. (2002). *Principal component analysis*. Springer series in statistics (2nd edition). New York, USA: Springer.
- Karney, C. F. F. (2016). Sampling exactly from the normal distribution. *ACM Transactions on Mathematical Software*, 42, 1–14.
- Kolmogorov, A. (1933). Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione. *G. Ist. Ital. Attuari.*, 4, 83–91.
- Landau S, & Everitt B S. (2004). *A handbook of statistical analysis using SPSS*. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC- A CRC press company, London, New York, p.300.
- Lipi, L. F., Hasan M. J., Akter A., Quddus M. R., Biswas P. L., Ansari A., & Akter S. (2020). Genetic variation, heritability and genetic advance in some promising rice hybrids. *SAARC Journal Agriculture*, 18(2), 39-49.
- Luby, C. H., Kloppenburg, J., Michaels, T. E., & Goldman, I. L. (2015). Enhancing Freedom to Operate for Plant Breeders and Farmers through Open Source Plant Breeding. *Crop Science*, 55 (6), 2481–2488.
- Mahdavi, D. B. (2013). The Non-Misleading Value of Inferred Correlation: An Introduction to the Cointelation Model. *Wilmott Magazine*, 67, 50–61.
- Moore, D. S., & Shenk, D. (2017). The heritability fallacy. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, 8(1–2), e1400.
- Muradoglu, F., Gursoy, S., & Guler, E. (2021). Multivariate analysis revealed the morphological variability among *Crataegus* species. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 31 (4), 961-972. DOI:10.29133/yyutbd.9745388
- Ning, Z., Pawitan, Y., & Shen, X. (2020). High-definition likelihood inference of genetic correlations across human complex traits. *Nature Genetics*, 52 (8), 859–864.

- Okuyama, L. A., Federizzi, L. C., & Neto, J. F. B. (2004). Correlation and path analysis of yield and its components and plant traits in wheat. *Ciencia Rural* (Santa Maria), 34(6), 1701-1708.
- Rosso, B., & Pagano, E. (2005). Evaluation of introduced and naturalized populations of red clover (*Trifolium pretense* L.) at Pergamino EEA-INTA, Argentina. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52, 507-511.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality. *Biometrika*, 52(3-4), 591-611.
- Shore, H. (2011). Response Modeling Methodology. *WIREs Comput Stat.*, 3 (4), 357–372.
- Shore, H. (2012). Estimating Response Modeling Methodology Models. *WIREs Comput Stat.*, 4 (3), 323–333.
- Sivasubramanian, S., & Menon, M. (1973). Heterosis and inbreeding depression in rice. *Madras Agric. J.*, 60, 1139.
- Smirnov, N. (1948). Table for estimating the goodness of fit of empirical distributions. *Annals of Mathematical Statistics*, 19 (2), 279–281.
- Székely, G. J., Rizzo, M. L., & Bakirov, N. K. (2007). Measuring and testing independence by correlation of distances. *Annals of Statistics*, 35 (6), 2769–2794.
- Tarka, P. (2017). An overview of structural equation modeling: Its beginnings, historical development, usefulness and controversies in the social sciences. *Quality & Quantity*, 52 (1), 313–354.
- Tester, M., & Langridge, P. (2010). Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*, 327 (5967), 818–822.
- Turkheimer, E. (2011). Still missing. *Research in Human Development*, 8 (3–4), 227–241.
- Turkheimer, E. (2015). Genetic Prediction. *The Hastings Center Report*, 45 (5 Suppl.), 32–38.
- Vrbik, J. (2018). Small-Sample Corrections to Kolmogorov–Smirnov Test Statistic. *Pioneer Journal of Theoretical and Applied Statistics*, 15 (1–2), 15–23.
- Wray, N., & Visscher, P. (2008). Estimating Trait Heritability. *Nature Education*, 1 (1), 29.
- Yim, O., & Ramdeen, K. T. (2015). Hierarchical cluster analysis: comparison of three linkages measures and application to psychological data. *The quantitative methods for Psychology*, 11(1), 8-21.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Effects of Different Growing Media on Growth Parameters of Zinnia (*Zinnia elegans*)

Ashlan ESRİNGÜ^{1*}, Melek EKİNCİ², Metin TURAN³

¹Atatürk University, Faculty of Architecture and Design, Department of Landscape Architecture, 25100, Erzurum, Turkey

²Atatürk University, Faculty of Agriculture Department of Horticulture, 25100, Erzurum, Turkey

³Yeditepe University, Department of Genetics and Bioengineering, 34755, Istanbul, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-7930-5290>, ²<https://orcid.org/0000-0002-7604-3803>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4849-7680>

*Corresponding author e-mail: esringua@atauni.edu.tr

Article Info

Received: 08.12.2021

Accepted: 02.03.2022

Online published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1034425

Keywords

Coir,
Media,
Perlite,
Sand,
Zinnia elegans

Abstract: Growth media have important effects on the development of ornamental plants. Many organic and inorganic materials are used in the as growing media (GM) of plants. The present study was carried out in Atatürk University controlled greenhouses condition. In the study, 11 different media created with sand, soil, peat, perlite, and coconut peat and their different mixtures were used as growing media. Mixing medium on a volumetric basis (V:V), respectively: Mix 1: coconut peat+perlite+peat (1:1:1), mix 2: coconut peat + perlite+ soil (1:1:1), mix 3: coconut peat + peat + soil (1:1:1), mix 4: coconut peat + sand + soil (1:1:1), mix 5: perlite + sand + soil (1:1:1), mix 6: peat + sand+soil (1:1:1). Our results showed that GM had a positive effect on the plant growth and flower parameters (flower number, stem diameter, flower stem length, flower diameter, flower stem thickness, plant wet and dry weight, flower wet and dry weight, root length parameters), chlorophyll reading value (SPAD), and chemical properties of plant leaves. In the study, it was determined that the plant growth and development were better by using peat + sand + soil (1:1:1) mixtures that can be suggested as useful growth media for *Zinnia elegans* plants.

To Cite: Esringü, A, Ekinci, M, Turan, M, 2022. Effects of Different Growing Media on Growth Parameters of Zinnia (*Zinnia elegans*). *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 175-185. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1034425>

Kirli Hanım Çiçeği (*Zinnia elegans*) nin Büyüme Parametreleri Üzerine Farklı Büyüme Ortamlarının Etkileri

Makale Bilgileri

Received: 08.12.2021

Accepted: 02.03.2022

Online Published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.1034425

Anahtar Kelimeler

Hindistan cevizi kabuğu,
Ortam,
Perlite,
Kum,
Zinnia elegans

Öz: Süs bitkilerinin gelişimi üzerinde büyüme ortamlarının önemli etkileri vardır. Bitkilerin yetiştirme ortamı (BYO) olarak birçok organik ve inorganik malzeme kullanılmaktadır. Çalışma Atatürk Üniversitesi kontrollü sera koşullarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yetiştirme ortamı olarak kum, toprak, perlit ve hindistancevizi turbası ve bunların farklı karışımları ile oluşturulan 11 farklı ortam kullanılmıştır. Karışım ortamları hacimsel esasa göre (V:V) sırasıyla: Karışım 1: hindistan cevizi turba+perlit+turba (1:1:1), karışım 2: hindistan cevizi turba+perlit + toprak (1:1:1), karışım 3: hindistan cevizi turba + turba + toprak (1:1:1), karışım 4: hindistan cevizi turba + kum+toprak (1:1:1), karışım 5: perlit+kum+toprak (1:1:1), karışım 6: turba+ kum +toprak (1:1:1) şeklindedir. Sonuçlarımız, BYO'nun bitki büyüme ve çiçek parametreleri (çiçek sayısı, gövde çapı, çiçek sap uzunluğu, çiçek çapı, çiçek sap kalınlığı, bitki yaş ve kuru ağırlığı, çiçek yaş ve kuru ağırlığı, kök uzunluğu parametreleri), bitki klorofil okuma

değeri (SPAD) ve kimyasal özellikleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmada, *Zinnia elegans* bitkileri için faydalı büyüme ortamı olarak turba+kum+toprak (1:1:1) karışımlarının kullanılmasının bitki büyüme ve gelişiminin daha iyi olduğu tespit edilmiştir. hardness, adhesiveness, resilience and cohesiveness values of the meatball samples. However, the frying method did not have a significant effect on the springiness ($p>0.05$). The frying number caused a decrease in all texture parameters except the gumminess value.

1. Introduction

Zinnia elegans is a common ornamental plant of the Asteraceae family. These plants are of American origin with Central America and Mexico origin. The plant has 20 varieties as annual and perennial. The genus *Zinnia* and *Zinnia elegans* are the most widely known among them (Dole and Wilkins, 2005). It has got an impressive range of flower colors and persistent bloom. It is one of the seasonal plants. It is grown by sowing seeds in the spring. *Zinnia* flowers exhibit bright, uniform colors, sturdy stems with disease resistant plants, and along with vase life (Sardoie et al., 2015). *Zinnia* flowers have different colors such as white, light green, yellow, orange, red, purple, and lilac (Salem et al., 2003). It has different usage areas as landscape land arrange. Long varieties of *zinnia* are used for cut flower production, while shorter varieties are used as annual garden, window, and pot plants (El-Nashar and Aboelsaadat, 2020). Since it is a temperate climate plant, it is not resistant to frosts and extreme cold. There are many varieties with dwarf, tall, plain and layered flowers. Many types of *zinnia* are used in cut floriculture. Leaves are lanceolate, and their length varies between 15 cm and 1 meter. Its leaves are light green in color and are arranged in an oval or heart shape on the stem (Burlec et al., 2019). *Zinnia* is valuable for landscape works due to its resistance to drought and temperature and its long flowering period (Ebrahimzadeh and Seifi, 1999; Taherpazir and Hashemabadi, 2016).

Drought-resistant *Zinnia elegans* are widely used in landscaping in many parts of the world. *Zinnia elegans* began gaining popularity in 1790 by being recognized in Europe as a landscape plant (Burlec et al., 2019). *Zinnia* is tolerant of different soil types except for intense moisture and poorly ventilated soils that can cause root rot. With drip irrigation, leaves remain dry, and the spread of disease that can be transmitted from leaf to leaf or from plant to plant is reduced (Johnson and Kessler, 2008).

Growth media (GM) have important effects on the development of the plant. Today, producers prefer growth media that will allow the plant to grow rapidly and do not cause much labor, time, and money loss. Many organic and inorganic materials are used in the GM of plants. For this purpose, different media such as sand, soil, perlite, coir were used as GM for the growing of ornamental plants. Soil conditioners and the mixture of the substrate of growing media are important parameters that affect the plant height, the number of leaves, the number and diameter of florets per spike, yield, and the longevity of the plants provided proper aeration, water holding capacity, and adequate nutrient supply. It has been reported that the optimum amount of nutrient and environmental factors affect the plant growth, development, and flowering of the plant (Alvarez et al., 2018).

Perlite is a volcanic material heated to (850 °C), it is light weight, chemically inert, pH neutral, sterile and odorless, and its particles create tiny air tunnels, which allow moisture and oxygen to flow freely to roots (Sharbazhery and Gareeb, 2016). Due to the porous structure of sand, they have features such as low cation exchange capacity, low water holding capacity, and scarcity of nutrients. In addition, since it has large pores (macro pores), the nutrients found are lost due to rapid washing. If it is to be used as a growth medium, it needs intensive fertilization and irrigation. For these reasons, it is not preferred by growers as a single planting medium (Rosalina et al., 2019).

Peat is an organic soil type formed as a result of the decrease in the water level in the lake beds, the prominence of plant activities, the death of the plant due to the increase of the water level in winter, and the continuous repetition of this naturalness. Peat has important functions for the plant. It holds water and nutrients due to its high water holding and aeration capacity. Peat can hold 20 times its own weight in water. It is easy to carry because of its light weight, it is sterile, and does not contain foreign matter (Fascella, 2015). Peat is a good substrate used as a growing medium in vegetable and ornamental plants seedling cultivation due to its optimum quality properties (Noordegraaf et al., 2014).

Coir growth medium is widely used as a medium for the production of potted ornamental plants. It is one of the most preferred media in plant breeding due to its physical and chemical properties such as pH, EC, bulk density, high water holding capacity (Ilahi and Ahmad, 2017). Coir is the substrate obtained from the shell of the coconut and used in soilless agriculture. In addition, it can be used as a plant growing medium alone or as a mixture due to its high pore number, high water holding capacity, low bulk density, and slow biodegradation (Cahyo et al., 2019). Coir can be used as a plant growth medium alone or as a component. In a study, it was found that cucumber grown under salt stress is more effective on the growth and yield of the plant than rock wool and perlite (Cahyo et al., 2019). The better performance of coir may be due to its higher water and nutrient holding capacity. It has also been reported that coir has a cation exchange capacity 50-100 times higher than perlite; in this case, it affects the pH and nutrient intake (Usanmaz and Abak, 2019). In another study, after the use of coir as a planting medium, balanced fertilization was recommended to provide nutrients not found in cocoa (Cahyo et al., 2019).

This study was carried out to compare the effects of different growth media such as sand, soil, perlite, coir and their different mixture forms on zinnia growth parameters.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material and growth conditions

The potting study was conducted in controlled greenhouse conditions at Atatürk University Faculty of Agriculture between May 2019 and July 2019 in Erzurum province in the northeastern Anatoli region of Turkey.

Growing media (GM) such as soil, perlite, sand, peat, and coir were used as a single and mix in the study. The experimental layout is randomized as sand, soil, peat, perlite, coir, Mix 1 (coir + perlite + peat), Mix 2 (coir + perlite + soil), Mix 3 (coir + peat + soil), Mix 4 (coir + sand + soil), Mix 5 (perlite + sand + soil), Mix 6 (peat + sand + soil) (Table 1). Coir (PC) has been used as a reference medium because it is known as a growing medium for ornamentals and outdoor plants.

Table 1. Potting media combination

Growing Media	Growing Media	Ratio
Sand	SD	1
Soil	SO	1
Peat	PT	1
Perlite	PR	1
Coir	CP	1
Coir + Perlite + Peat	Mix 1	1:1:1
Coir + Perlite + Soil	Mix 2	1:1:1
Coir + Peat + Soil	Mix 3	1:1:1
Coir + Sand + Soil	Mix 4	1:1:1
Perlite + Sand + Soil	Mix 5	1:1:1
Peat + Sand + Soil	Mix 6	1:1:1

The experiment was applied in 3 replicates in a random block design. Zinnia seeds were firstly sown into the multi-celled trays filled with peat. About two months later, the homogenous and healthy seedlings were transferred into 2.5 L pots as a seedling for each pot. The fertilizer (18-18-18, NPK+TE) was applied to all pots as 100 cc two-week intervals.

The study was carried out in controlled greenhouses of Erzurum Atatürk University Faculty of Agriculture. During the study period, the average minimum temperature of the greenhouse was 14.4 °C, and the average maximum temperature was 32.9 °C, while the average air humidity was 25 ± 5%. The study was carried out in 99 pots with 11 different growing media.

2.2. Growth and yield parameters

Harvest was made after 60 days of transplanting. After harvest, 2 samples were taken from each pot and prepared for various analyses. Plant flower number, stem diameter (mm), flower stem length (cm), flower diameter (mm), flower stem thickness (mm), plant fresh and dry weight (gr), flower fresh and dry weight (gr), chlorophyll reading value (SPAD), root length parameters (cm) were examined. The plant samples for dry weight were kept in an oven at 65 °C for 48 h. Leaf chlorophyll reading value was determined with a portable chlorophyll meter (SPAD-502). Since the plants used in the experiment were initially selected in equal size, no measurements were made. Afterward, measurements were made in 2 different periods as flowering and harvesting periods.

2.3. Medium chemical analysis

In the study, various analyzes were made on soil samples taken from growth media. Experimental samples were air dried, crushed and passed through a 2mm sieve prior to chemical analysis. The Kjeldahl method (Bremner, 1996) was used to determine total N while plant available whereas P concentrations were determined by using the sodium bicarbonate method of Olsen et al. Electrical conductivity (EC) was measured in saturation extracts according to Rhoades. Samples pH were determined in 1:2 extracts, and calcium carbonate concentrations were determined according to McLean. Soil organic matter was determined using the Smith-Weldon method according to Nelson and Sommers. Ammonium acetate buffered at pH 7 (Thomas 1982) was used to determine exchangeable cations. Available Fe, Mn, Zn, and Cu in the soils were determined by DTPA extraction methods (Lindsay and Norvell, 1978). Available B was analyzed for extractable B using the azomethine-H extraction of Wolf. Some physical and chemical properties of mediums used in the study Table 2. *Zinnia elegans* leaves and roots were ground after being dried at 68 °C for 48 h in an oven. Determination of the total N was achieved by the Kjeldahl method using a Vapodest 10 Rapid Kjeldahl Distillation Unit (Gerhardt, Königswinter, Germany). An inductively coupled plasma spectrophotometer (Optima 2100 DV, ICP/OES; Perkin-Elmer, Shelton, CT) was used to determine tissue P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, B, Cl, and Cd (Mertens, 2005a and 2005b).

Table 2. Some physical and chemical properties of the medium used in the study

Growth Medium	pH	EC (dS m ⁻¹)	Lime (g kg ⁻¹)	Organic Matter (%)	Total N (%)	Soluble P (mg kg ⁻¹)	Soluble K (mg kg ⁻¹)	Soluble Ca (mg kg ⁻¹)
CP	6.5±0.2	0.82±0.05	0.32±0.02	6.5±0.1	0.37±0.04	0.6±0.02	90±15	455±5
PR	6.8±0.3	0.79±0.08	0.77±0.04	0.2±0.2	0.002±0.06	0.08±0.03	40±1.5	390±4
PT	6.9±0.2	0.97±0.04	0.54±0.03	20.5±0.2	0.005±0.74	0.72±0.04	174±1.6	750±7
SD	6.8±0.3	0.88±0.06	0.11±0.020	0.2±0.3	0.010±0.21	0.05±0.05	22±1.4	300±3
SO	7.3±0.3	1.0±0.05	1.90±0.52	1.3±0.2	0.030 ±0.05	2.41±0.03	114±31.7	1050±8
Mix 1	6.9±0.20	1.05,6±0.03	0.7±0.05	6.9±0.1	0.35±0.06	0.53±0.040	96±2.2	715±3
Mix 2	6.7±0.2	0.92±0.06	0.68±0.07	2.1±0.3	0.19±0.05	0.50±0.32	93±1.8	670±6
Mix 3	6.8±0.3	0.88±0.08	0.6±0.05	6.6±0.3	0.27±0.03	0.59±0.02	83±1.4	477±4
Mix 4	7.2±0.2	0.96±0.09	0.63±0.02	4.3±0.2	0.14±0.07	0.56±0.02	69±1.6	430±5
Mix 5	6.8±0.2	0.87±0.04	0.75±0.06	0.5±0.3	0.025±0.08	0.05±0.04	29±1.5	355±3
Mix 6	7.1±0.2	1.07±0.07	0.42±0.08	6.3±0.2	0.32±0.06	0.56±0.02	62±1.2	390±7

Growth Medium	Mg (mg kg ⁻¹)	Na (mg kg ⁻¹)	Available B (mg kg ⁻¹)	Available Cu (mg kg ⁻¹)	Available Fe (mg kg ⁻¹)	Available Zn (mg kg ⁻¹)	Available Mn (mg kg ⁻¹)
CP	20.3±0.5	11.4±1.1	0.07±0.02	0.1±0.05	0.5±0.02	0.07±0.01	0.08±0.01
PR	16.5±0.6	23.9±1.0	0.06±0.02	0.14±0.03	0.3±0.02	0.07±0.020	0.09±0.01
PT	26.5±0.7	9.54±1.2	0.02±0.01	0.15±0.03	0.6±0.01	0.2±0.02	0.09±0.01
SD	8.4±0.4	3.3±0.5	0.05±0.03	0.13±0.05	0.4±0.03	0.05±0.020	0.03±0.02
SO	40.5±0.5	11.1±40.6	0.06±0.02	0.32±0.02	1.2±0.01	0.30±0.03	0.01±0.01
Mix 1	25.4±0.5	8.59±0.8	0.03±0.02	0.14±0.03	0.5±0.02	0.15±0.01	0.09±0.02
Mix 2	20.5±0.5	9.45±0.9	0.02±0.03	0.17±0.02	0.4±0.01	0.15±0.02	0.08±0.02
Mix 3	19.6±0.3	8.77±0.5	0.02±0.01	0.15±0.03	0.6±0.03	0.13±0.02	0.07±0.01
Mix 4	29.4±0.6	9.56±0.4	0.04±0.03	0.16±0.02	0.5±0.03	0.12±0.01	0.06±0.02
Mix 5	22.7±0.7	9.43±0.6	0.03±0.02	0.17±0.02	0.4±0.02	0.12±0.02	0.07±0.03
Mix 6	19.6±0.4	8.3±0.3	0.04±0.03	0.14±0.03	0.3±0.01	0.14±0.02	0.06±0.02

CP: coir, PR: perlite, PT; Peat, SD: sand, SO: Soil, Mix 1: coir + perlite + peat (1:1:1), Mix 2: coir + perlite + soil 1:1:1), Mix 3: coir + peat + soil:1:1), Mix 4: coir + sand+Soil (1:1:1), Mix 5: perlite + sand + soil (1:1:1), Mix 6: Peat + Sand + Soil (1:1:1).

2.4. Statistical analysis

The data obtained from the study results were subjected to variance analysis, and the differences of the means were determined by the Duncan multiple comparison test (SPSS, 2010).

3. Results and Discussion

Our results showed that different growth medium applications significantly affected the plant growth parameters such as the number of flowers, plant height, pedicle length, pedicle diameter, plant fresh weight, plant dry weight, root fresh weight, root dry weight, root length of *Zinnia elegans* plants (Table 3). Number of flowers, plant height, pedicle length, pedicle diameter, plant fresh weight, plant dry weight, root fresh weight, root dry weight, root length, chlorophyll reading (SPAD) of *Zinnia elegans* plant differed significantly among treatments. The highest numbers of flowers per plant and pedicle length were recorded in soil treatment, followed by Mix 6 treatment. The least flower number per plant was found in CP treatment. Soil medium increased flower per plant and pedicle length by 81.96 and 78.13%, respectively, compared to the CP. CP has been used as a reference medium because it is known as a growing medium for ornamentals and outdoor plants. The highest plant height, plant fresh weight, plant dry weight, root fresh weight, root dry weight, root length, and chlorophyll reading were obtained from Mix 6 application. Mix 6 applications increased plant height, plant fresh weight, plant dry weight, root fresh weight, root dry weight, and root length reading by 183%, 108%, 57.32%, 236%, and 31.53%, respectively, compared to the CP. On the other hand, the highest chlorophyll reading values were obtained from SD and followed by Mix 5, Mix 6 applications, the lowest values were found in CP treatments (Table 3). Mix5 and Mix 6 treatment increased the chlorophyll reading values by 52.88% and 50,92%, respectively, compared to the PC.

These results are supported by the findings of various researchers. Awan and Ismail (1997); Riaz et al. (2008) found that *Zinnia elegans* and marigold produced more flowers when grown in a coconut-containing media, but in this case, coconuts failed to produce these effects when used alone.

In a study, different media were used for the growth performance of *Ficus benjamina*, *Padanus sanderi*, *Rosmarinus officinalis* plants. In the study, the highest average stem length was determined in 50% peat moss + 25% sand + 25% perlite and 50% peat moss + 25% sand + 25% perlite (Sardoei and Rahbaria, 2014). In a study, saffron was grown in soil + sand (control), soil + sand + fertilizer, soil + sand + onion, and soil + sand + fertilizer + nitfojip-K, and the effect of hydration on plant growth was examined. The best media in the study was determined as soil + sand + fertilizer environment (Turhan et al., 2007). Younis et al. (2007) Dahlia coccinia plant in different growth media (coconut coir, compost, silt, leaf manure, manure mix (silt 1+sand 1+leaf manure 1), compost mix (compost 1+sand 1+silt 1), coconut coir mix (coconut coir 1+silt 1+sand 1), silt+normal) the effects of the plant on flower quality, flower size and germination were investigated. As a result of the research, it has been proven that the fertilizer leaf manure application of the plant is a much better growing media than other applications. In a study, volumetric mixtures such as peat + sand (2:1), peat + perlite (2:1), and soil + farmyard manure + sand (2:1:1) were investigated on the seedling characteristics and leaf nutrient content of *Alnus orientalis* plant of different growing media its effects have been researched. As a result of the research, the highest values on plant seedling length, stem diameter, number of leaves, number of side shoots, stem and root length, and dry weight were recorded for seedlings grown on a mixture of soil + fertilizer + sand (2: 1: 1) (Kösa and Karaguzel, 2012). On the growth and flowering of *Zinnia elegans* plant, coconut compost, silt, soil loam, foliar fertilizer, (foliar + silt; 2:1), (coconut compost + soil loam; 1:1) and silt; 2: 1), (coconut compost + soil loam; 1: 1) and (leaf manure + soil loam + silt; 1:1:1), the effects of seven different growing media on the growth parameters of the plant were evaluated. In this study, it was determined that maximum vase life and flower diameter increased significantly in both media using foliar fertilizer and mixture (coconut compost + soil tone; 1:1) (Sardoei et al., 2014). The effects of different potting media on plant growth parameters of chrysanthemum variety Punjab Anuradha were examined, and differences were observed between environments. As a result of the study, it was determined that the medium containing Coir + Sand + farmyard manure (FYM) + Vermicompost showed maximum values for plant height, plant spread, number of branches per plant, flowering duration, flower weight, spray length and number of flowers per plant. However, the maximum flower

diameter was obtained from the combination of Soil + Sand + FYM + Vermicompost (2:1:0.5:0.5) (Kameswari et al., 2014).

Many studies emphasize the importance of growing media as well as the availability of nutrients for optimum plant growth (Brito et al., 2015). However, besides the presence of nutrients, the pH and EC values of the environment are also important factors (Caballero et al., 2007). The pH of growing environments, affects the availability of plant nutrients. Increases and decreases in pH levels directly affect plant growth parameters. Awang et al. (2010) stated that the best pH range is in the range 5.9-7.0, and the plants show the best growth and development in this range. Our results range from 6.5-7.1 (Table 2). This shows that the pH value of all growth media is suitable. Electrical conductivity (EC) allows measurement of dissolved salts in soil affects plant growth (Bustamante et al., 2008). EC higher than 4dS/m generally depresses plant growth (Ribeiro et al., 2002; Riaz et al., 2008) EC values of the environments in the study ranged between 0.82-1.07 (Table 2).

The present study showed that different growth medium applications significantly affected on leaf and root nutrient content such as nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), sodium (Na), zinc (Zn), iron (Fe), manganese (Mn), copper (Cu) and boron (B) leaf and root content of *Zinnia elegans* plant differed significantly among treatments. The highest leaf N, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, and B content of *Zinnia elegans* were recorded in PT treatment, followed by SD treatment. While the highest K was found in SD treatment. PT medium increased N, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu and B by 51.54%, 79.63%, 47.85%, 23.63%, 106.8%, 58.86%, 44.08% and 1454.8% respectively, compared to the PC (Table 4).

The highest root N, P, Zn, Cu, and B content of *Zinnia elegans* were recorded in PT treatment, followed by SD treatment. While the highest K, Ca, Fe, and Mn were found in SD treatment. PT medium increased N, P, Zn, Cu, and B by 52.38%, 79.51%, 112.54%, 44.29%, and 145.21%, respectively, compared to the PC (Table 5). SD treatment increased K, Ca, Fe, and Mn by 57.59%, 49.77%, 65.08%, and 51.25%, respectively.

Results from various studies revealed that the suitability of using peat in plant cultivation in terms of providing plant nutrients had been demonstrated (Ceglie et al., 2015; Dhen et al., 2018). Stamps and Evans (1997) reported that the use of coconut instead of moss peat for the plant dieffenbachia (*Dieffenbachia maculata*) gives better results for growth index and visual performance. In a study conducted, Stok (*Matthiola incana* L. 'Midseason Merry White') and zinnia (*Zinnia elegans* Jacq. 'Benary's Giant Deep Red') plants were grown in different environments. These environments; It is in the form of peat, coconut and traditional substrate (soil + silt + leaf mildew, 1: 1: 1, v / v / v). As a result of the study, it was determined that the NPK content of the peat medium was higher than the other medium (Saleem et al., 2015). Al-Ajlouni et al. (2017) found that there is no linear relationship between the mineral element presence of the growing environment and the mineral element concentration in the above-ground parts of the plant. They determined that the effects of different media (coconut, palm peat, and perlite) used in tomato cultivation on the nutrient concentration of the fruit such as N, P, K in the greenhouse were not significant (Ghehsareh et al., 2011). A study with lily plants revealed that the increase in N concentration in the plant might cause an increase in Ca absorption (Marin et al., 2011). Similarly, in our study, the amount of Ca increased in parallel with the increase in the amount of N in the plant (Table 4). Hajizadeh et al. (2016) explained that the reason for the growth of the upper parts more than the roots is the presence of more N in the upper parts of the plants. In our study results, it was revealed that the N content of the plants' upper part is higher than the root part (Table 3-4). In our study, it has been shown that single sand and peat media contain more Mn than other single media (Table 3). Similarly, it was determined that Mn content increased in rose cultivation in coconut peat environments (Roosta et al., 2015). In a greenhouse study, the effect of palm and coconut habitats on lily plant growth and nutrient was investigated. As a result of the research, when the effect of different growing media in terms of plant nutrient content was evaluated with the control group, some elements (K, Ca, Cu and Mn) were compared to other elements (N, Mg, and Fe) (Heidari et al., 2021).

Table 3. Effect of different growing medium on growth parameters of *Zinnia elegans*

Growth Medium	Number of Flower (per plant)	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Pedicle length (cm)	Pedicle diameter (mm)	Flower diameter (mm)
CP	1.83±0.29 d	20.75±1.64 c	4.90±0.80 ns	7.18±1.07 cd	2.75±0.36 d	50.74±6.83 ns
PR	2.33±0.58 bcd	20.74±2.16 c	4.89±0.18	8.29±1.14 bcd	3.05±0.22 cd	50.78±9.42
PT	2.67±0.29 a-d	25.83±0.88 a	6.57±0.81	12.79±0.90 a	3.25±0.20 a-d	57.19±2.29
SD	2.93±0.55 abc	22.50±1.80 abc	5.99±1.64	7.90±1.15 bcd	3.04±0.31 cd	45.98±12.83
SO	3.33±2.29 a	24.37±1.26 ab	5.69±0.48	6.33±0.76 d	3.15±0.13 bcd	56.81±5.71
Mix 1	2.50±0.50 a-d	23.83±0.88 abc	5.44±0.34	9.48±0.23 bc	3.54±0.36 abc	59.73±6.01
Mix 2	2.50±0.49 a-d	23.53±1.71 abc	5.69±0.05	8.50±2.18 bcd	3.83±0.16 a	59.25±8.66
Mix 3	2.50±0.48 a-d	23.83±2.75 abc	5.90±0.66	8.99±1.57 bc	3.78±0.73 ab	58.73±13.21
Mix 4	2.00±0.50 cd	21.83 ±1.57bc	5.65±0.10	9.78±1.34 b	3.50±0.35 abc	53.79±4.11
Mix 5	2.67±0.58 a-d	24.25 ±1.64ab	5.98±0.31	9.56±1.39 bc	3.51±0.34 abc	63.62±4.71
Mix 6	3.17±0.76 ab	25.42±2.16 a	6.13±0.41	12.37±1.43 a	3.60±0.24 a	54.05±8.35

	Plant fresh weight (g plant ⁻¹)	Plant dry weight (g plant ⁻¹)	Root fresh weight (g plant ⁻¹)	Root dry weight (g plant ⁻¹)	Root length (cm)	Chlorophyll reading value (SPAD)
CP	9.34±0.75 d	2.84±1.22 e	17.60±6.54 bc	1.21±0.85 c	32.50±3.40 ab	18.40±1.22 f
PR	13.30±2.51 cd	3.51±0.77 de	18.60±6.23 bc	2.23±0.99 bc	27.37±1.93 b	26.30±1.65 a-d
PT	24.490±0.50 ab	6.80±1.05 a	15.60±2.51 bcd	3.01±1.29 ab	23.42±3.16 b	27.03±1.60 abc
SD	13.08±5.39 cd	3.23±0.86 de	8.30±2.47 d	1.03±0.61 c	28.58±2.32 b	29.17±2.63 a
SO	14.82±2.73 cd	3.99±0.49 cde	14.10±3.61 cd	1.08±0.32 c	23.92±0.14 b	27.77±0.31 ab
Mix 1	18.62±1.74 bc	4.11±0.22 cde	27.12±2.78 a	2.76±0.35 b	33.17±1.38 ab	23.63±1.53 de
Mix 2	20.941.35 ab	4.59±0.52 bcd	16.55±1.99 bc	1.75±0.20 bc	34.58±3.56 ab	23.97±1.76 cde
Mix 3	23.17±5.35 ab	5.39±1.11 abc	23.16±2.13 ab	2.39±0.28 bc	42.75±1.39 a	23.03±2.06 e
Mix 4	12.05±4.59 d	3.61±0.56 de	14.90±2.41 cd	1.70±0.65 bc	31.58±0.52 ab	24.60±0.95 b-e
Mix 5	13.94±1.19 cd	5.19±0.63 bc	20.38±2.08 abc	2.07±0.33 bc	33.75±1.64 ab	28.13±2.68 a
Mix 6	26.45±4.12 a	5.92±1.03 ab	27.69±6.81 a	4.07±1.04 a	42.75±1.50 a	27.77±0.25 ab

CP: coir, PR: perlite, PT: Peat, SD: sand, SO: Soil, Mix 1: coir + perlite + peat (1:1:1), Mix 2: coir + perlite + soil 1:1:1), Mix 3: coir + peat + soil 1:1:1), Mix 4: coir + sand+Soil (1:1:1), Mix 5: perlite + sand + soil (1:1:1), Mix 6: Peat + Sand + Soil (1:1:1).

Table 4. Effect of different growing medium on leaf macro and micro nutrient content of *Zinnia elegans*

Growth Medium	N (%)	P (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Na (mg kg ⁻¹)
CP	0.97±0.07 e	837.61±14.11 e	7127.44±307.77 cde	2197.21±88.89 f	830.59±69.38d	240.28±19.86 ns
PR	1.06±0.16de	852.42±161.79 e	6701.95±978.35 de	2399.31±269.36 ef	887.73±88.97 bcd	260.54±8.89
PT	1.47±0.08 a	1504.66±63.13 a	9817.12±300.04 ab	3248.63±130.70 a	935.75±101.36 bcd	215.62±17.96
SD	1.30±0.04 bc	1333.88±78.56 ab	10472.91±757.20 a	3169.74±168.65 ab	1026.88±72.48 ab	251.54±35.86
SO	1.18±0.07 bcd	1058.37±38.62 cde	8215.46±736.40 bcd	2767.47±210.30 b-e	988.77±60.21 abc	213.16±10.55
Mix 1	1.23±0.03 bc	1164.84±233.34 bc	9113.41±166.70 abc	2725.48±197.31 cde	942.56±32.12 bcd	220.90±7.22
Mix 2	1.29±0.02 bc	1323.53±55.41 ab	10759.52±77.21 a	2978.22±45.63 abc	1016.73±55.76 ab	253.96±30.33
Mix 3	1.15±0.01 cd	1048.86±184.91 cde	7854.17±156.84 cd	2557.81±264.31 def	886.45±57.75 bcd	259.23±70.26
Mix 4	1.19±0.08 bcd	1107.92±31.45 bcd	7440.34±302.16 cde	2770.62±123.93 b-e	1008.18±61.85 abc	243.06±31.87
Mix 5	1.04±0.11 de	886.76±78.22 de	5863.78±549.81 e	2282.11±133.94 f	869.50±114.65 cd	263.47±55.25
Mix 6	1.34±0.13 ab	1187.81±235.71 bc	8398.67±204.32 bcd	2909.40±470.59 a-d	1083.38±60.84 a	268.65±23.78

	Zn (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	B (mg kg ⁻¹)
CP	6.290.63 f	29.27±1.18 de	10.13±0.84 e	10.57±0.52 cd	2.66±0.27 ef
PR	7.10±0.73 ef	33.98±6.52 bcd	11.07±2.33 de	10.26±1.30 cd	2.88±1.07 ef
PT	13.01±0.67 a	46.50±3.16 a	14.62±2.15 abc	15.23±1.43 a	6.53±0.90 a
SD	11.54±1.09 ab	46.49±1.34 a	14.74±0.64 ab	13.13±1.06 b	5.16±0.50 bc
SO	9.09±1.40 cde	40.08±3.56 abc	12.66±1.12 a-e	12.38±1.37 bc	3.90±0.21 cde
Mix 1	9.52±1.66 bcd	40.83±6.65 ab	13.57±1.97 a-d	12.16±1.36 bc	4.53±1.23 bcd
Mix 2	11.53±0.38 ab	45.37±2.11 a	15.08±0.41 a	12.59±0.74 bc	5.45±0.80 ab
Mix 3	8.04±2.44 def	32.10±6.90 cde	12.04±1.92 cde	11.70±0.78 bcd	3.33±1.02 def
Mix 4	9.17±0.73 b-e	36.70±1.15 bcd	12.28±0.18 b-e	11.69±1.50 bcd	3.48±0.05 def
Mix 5	6.97±0.13 ef	25.41±0.77 e	11.00±0.30 de	9.54±0.62 d	2.13±0.36 f
Mix 6	11.08±2.05abc	39.81±5.85 abc	14.61±2.15 abc	11.37±1.80 bcd	3.82±0.94 cde

CP: coir, PR: perlite, PT: Peat, SD: sand, SO: Soil, Mix 1: coir + perlite + peat (1:1:1), Mix 2: coir + perlite + soil (1:1:1), Mix 3: coir + peat + soil (1:1:1), Mix 4: coir + sand+Soil (1:1:1), Mix 5: perlite + sand + soil (1:1:1), Mix 6: Peat + Sand + Soil (1:1:1). Data followed by a different letter were significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (p<0.01).

Table 5. Effect of different growing medium on root macro and micro nutrient content of *Zinnia elegans*

Growth Medium	Total N	P (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Na (mg kg ⁻¹)
CP	0.42±0.03 f	356.11±6.00 e	3077.78±132.90 de	948.80±38.38 e	358.66±29.96 d	103.34±8.58 ns
PR	0.48±0.07 ef	370.97±70.41 de	3006.07±438.82 de	1076.17±120.82 de	398.180±39.90 be	116.86±10.27
PT	0.64±0.04 a	639.27±26.84 a	4239.24±129.56 b	1402.82±56.44 ab	404.07±43.77 b-e	93.10±7.76
SD	0.58±0.01 ab	580.50±34.19 ab	4850.56±339.63 a	1421.08±75.65 a	460.59±32.51 ab	112.82±16.09
SO	0.53±0.03 cd	460.60±16.81 cde	3684.94±330.30 bcd	1241.31±94.32 bcd	443.50±27.01 abc	95.61±4.73
Mix 1	0.55±0.02 bc	522.47±104.66 bc	4087.70±747.58 bc	1222.47±88.50 cd	422.27±14.41 a-d	99.07±3.24
Mix 2	0.58±0.06 ab	593.65±24.85 ab	4808.54±747.58 a	1335.84±20.47 bc	456.04±25.01 abc	113.91±13.61
Mix 3	0.48±0.01 def	445.92±78.62 cde	3313.00±661.77 cde	1078.93±111.49 de	373.18±24.36 de	109.34±29.64
Mix 4	0.50±0.03 cde	471.04±13.37 cd	3138.47±127.46 de	1168.69±52.28 cd	425.27±26.09 bcd	102.52±13.44
Mix 5	0.44±0.04 ef	377.00±33.26 de	2473.45±231.92 e	962.63±56.50 e	366.77±48.36 de	111.13±23.30
Mix 6	0.58±0.02 ab	505.00±100.21 bc	3626.72±882.31 bcd	1256.34±203.21 bcd	467.83± 26.27a	116.01±10.27
	Zn (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	B (mg kg ⁻¹)	
CP	2.71±0.27 g	12.63±0.51 e	4.37±0.37e	4.56±0.23 cd	1.15±0.12 ef	
PR	3.18±0.34 efg	15.24±2.92 cd	4.96±1.05cde	4.60±0.58 cd	1.29±0.48 ef	
PT	5.62±0.29 a	20.07±0.58 ab	6.31±0.93ab	6.58±0.62 a	2.82±0.39 a	
SD	5.17±0.49 b	20.85±1.41 a	6.61±0.29a	5.89±0.48 ab	2.32±0.22 abc	
SO	4.07±0.63 cde	17.97±1.59 abc	5.67±0.50 a-d	5.55±0.61 bc	1.75±0.09cde	
Mix 1	4.27±0.74 de	18.31±2.98 abc	6.08±0.88abc	5.45±0.60 bc	2.03±0.55 bcd	
Mix 2	5.17±0.17 b	20.35±0.95 ab	6.76±0.18 a	5.64±0.33 ab	2.44±0.36 ab	
Mix 3	3.38±1.03 efg	13.54±2.91 de	5.07±0.81 cde	4.93±0.63 bcd	1.40±0.43 def	
Mix 4	3.86±0.31 cdef	15.48±0.49 cd	5.18±0.08 bcde	4.93±0.32 bcd	1.47±0.02 def	
Mix 5	2.94±0.06 fg	13.88±0.33 de	4.63±0.13 de	4.02±0.26 d	0.89±0.15 f	
Mix 6	4.78±0.87 c	17.19±2.53 bc	6.31±0.93 ab	4.90±0.78 bcd	1.64±0.40 de	

CP: coir, PR: perlite, PT: Peat, SD: sand, SO: Soil, Mix 1: coir + perlite + peat (1:1:1), Mix 2: coir + perlite + soil (1:1:1), Mix 3: coir + peat + soil (1:1:1), Mix 4: coir + sand+Soil (1:1:1), Mix 5: perlite + sand + soil (1:1:1), Mix 6: Peat + Sand + Soil (1:1:1). Data followed by a different letter were significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (p<0.01).

4. Conclusions

In conclusion, different growth medium applications significantly affected on plant growth parameters and nutrient content of *Zinnia elegans* plants, and the application of peat + sand + soil 1:1:1 mixtures have been determined as the most suitable environment in terms of plant growth, nutrient uptake, development parameters and aesthetic and marketing point of view. This medium was the most convenient for the economic and sustainable cultivation of *Zinnia elegans* plants. It has been determined that the peat environment is very effective in terms of the macro and micro element content of the plant. It is seen that the growth parameter values of plants grown in Mix 6 application medium are higher than those grown in other application mediums. The reason for the very high plant growth in the Mix 6 application medium can be explained by the better uptake of plant nutrients by the plant from the growth medium. It was determined that the plants in the Mix 6 medium absorb more nutrients. It has been revealed that the mixture medium of peat + sand + soil (1:1:1) in *Zinnia elegans* plants is an ideal environment to obtain the maximum yield.

Acknowledgments

We thank Yeditepe University Laboratory for supplying the necessary laboratory conditions for the analysis.

Reference

- Al-Ajlouni, M. G., Ayad, J. Y., & Othman, Y. A. (2017). Particle size of volcanic tuff improves shoot growth and flower quality of asiatic hybrid lily using soilless culture. *Hort Technology*, 27(2), 223–22.
- Awang, Y., & Ismail, M. (1997). The growth and flowering of some annual ornamentals on coconut dust. *Acta Hort.*, 450, 31-38

- Awang, Y., Shaharom, A. S., Mohamad, R. B., & Selamat, A. (2010). Growth dynamics of *Celosia cristata* grown in coir, burnt rice hull and kenaf core fiber mixtures. *American Journal of Agrculture and Biological Sciences* 5, 70-76.
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Moral, R., Agulló, E., Pérez-Murcia, M. D., & Abad, M. (2008). Composts from distillery wastes as peat substitutes for transplant production. *Resour. Conserv. Recycl.*, 52, 792–799.
- Burlec, A. F., Pecio, T., Mircea, C., Cioanca, O., Corciova, A., Nicolescu, A., Oleszek, W., & Hancianu, M. (2019). Chemical profile and antioxidant activity of *Zinnia elegans* Jacq. Fractions. *Molecules*, 24, 29-34.
- Bremner, J. M. (1996). Nitrogen-total. In: J. M. Bartels & J. M. Bigham (Eds.) Chemical methods. of soil analysis, vol 3. *The Soil Science Society of America and the American Society of Agronomy, Madison*, (pp 1085–1121).
- Brito, L. M., Reis, M., Mourao, I., & Coutinho, J. (2015). Use of Acacia waste compost as an alternative component for horticultural substrates. *Communication in Soil Science Plant Analysis*, 46, 1814-1826.
- Caballero, R., Ordoña, J., Pajuelo, P., Carmona, E., & Delgado, A. (2007). Iron chlorosis in gerbera as related to properties of various types of compost used as growing media. *Communication Soil Science Plant Analysis*, 38, 2357–2369.
- Cahyo, A. N., Sahuri, S., Nugraha, I., S., & Ardika, R. (2019). Coir as soil substitute media for rubber (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) planting material. *Journal of Tropical Crop Science*, 6, 1.
- Ceglie, F. G., Bustamante, M. A., Ben Amara, M., & Tittarelli, F. (2015). The challenge of peat substitution in organic seedling production: optimization of growing media formulation through mixture design and response surface analysis. *PLOS One*, 10(6), e0128600. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0128600>.
- Dhen, N., Abed, S., Zouba, A., Haouala, F., & AlMohandes Dridi, B. (2018). The challenge of using date branch waste as a peat substitute in container nursery production of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Recycling Organic Waste in Agriculture*, 7(4), 357–364.
- Dole, J. M., & Wilkins, H. F. (2005). Floriculture: Principles and Species, 2nd Pearson/Prentice Hall, N.J., USA, 1048 p.
- Ebrahimzadeh, A., & Seifi, Y. (1999). Storage and handling of cut flowers. Green ornamental plants and pot plants. (Translation). *Akhtar Publishers Tabriz*, 233 pp.
- El-Nashar, Y. I., & Aboelsaadat, E. M. (2020). Effects of different sources of irrigation water on the growth of *Zinnia Elegans* L. under drought stress. *Scientific Journal Flowers Ornamental Plants*, 7(4), 409-423.
- Fascella, G. (2015). Growing substrates alternative to peat for ornamental plants. *Soilless culture-Use of substrates for the production of quality horticultural crops*, 47-67.
- Ghehsareh, A. M., Borji, H., & Jafarpour, M. (2011). Effect of some culture substrates (date-palm peat, coir and perlite) on some growing indices and nutrient elements uptake in greenhouse tomato. *African Journal Microbiolog Research*, 5, 1437-1442.
- Hajizadeh, H. S. (2016). The effect of 5-sulfosalicylic acid application during pre-and postharvest on the quality of *Lilium* (*Lilium longiflorum*) cut flowers. *Acta Horticulture*, 1131, 49–56.
- Heidari, S., Mortazavi, S. N., Reezi, S., & Nikbakht, A. (2021). Composted palm waste as an alternative of coco peat in growing media: effects on growth and nutritional status of Lily cut flower (*Lilium* spp.). *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 4(Special Issue-Plant Nutrition in Horticulture), 49-66.
- Ilahi, W. F. F., & Ahmad, D. A. (2017). Study on the Physical and Hydraulic Characteristics of Coir Perlite Mixture as a Growing Media in Containerized Plant Production. *Sains Malaysiana*, 46(6), 975–980.
- Johnson, C. N., & Kessler, J. R. (2008). Green house production of bedding plant Zinnias. *Alabama Cooperative Extension System*, ANR-1311.
- Kameswari, P. L., & Girwani, A. (2014). Padmavathamma, A.S. effect of different potting media mixtures on growth and flowering of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* T.). *Progressive Horticulture*, 46(2), 314-138

- Kösa, S., & Karagüzel, O. (2012). Effects of growing substrates on growth characteristics and leaf nutrient contents of *Alnus orientalis* seedlings. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1), 39-46.
- Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42, 421-428.
- Marin, M., Valdez-Aguilar, L. A., Castillo-Gonzalez, A. M., Pineda-Pineda, J., & Luna, J. J. G. (2011). Modeling growth and ion concentration of *Lilium* in response to nitrogen: Potassium: Calcium mixture solutions. *Journal of Plant Nutrition*, 34(1), 12-26.
- McLean, E. O. (1982). Soil pH and lime requirement. In: A. L. Page, R. H. Miller & D.R. Keeney (Eds.) *Methods of soil analysis, 2nd edn. Chemical and microbiological properties* (pp 199-224). ASA SSSA Publisher, Madison.
- Mertens, D. (2005a). Plants preparation of laboratory sample. In: W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.). *Official Methods of Analysis, 18th. Gaithersburg* (1-2). MD, USA, AOAC.
- Mertens, D. (2005b). Plants preparation of laboratory sample. In: W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.). *Official Methods of Analysis, 18th. Gaithersburg* (3-4). MD, USA, AOAC.
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1982). Organic matter. In: Page A.L. Miller & D. R. Keeney (Eds.) *Methods of soil analysis, 2nd edn. Chemical and microbiological properties* (pp 574-579). ASA SSSA Publisher, Madison.
- Noordegraaf, J., Jong, J., Bruijn, P., & Baltissen, T. (2014). Sustainable substrates for plants, trees and shrubs enabled with BioFoam® In: C. Blok (Ed.). *Proceedings of IS on Growing Media & Soilless Cultivation* (p. 1034). Acta Horticulturae.
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., & Dean, L. A. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. USDA, Washington, DC (Circ 939).
- Rhoades, J. D. (1996). Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. In: J. M. Bartels & J. M. Bigham (Eds.) *Chemical methods, 2nd edn. Methods of soil analysis* (pp 417-436). ASA SSSA Publisher Agronomy, Madison.
- Riaz, A., Arshad, M., Younis, A., Raza, A., & Hameed, M. (2008). Effects of different growing media on growth and flowering of *Zinnia Elegans* Cv. Blue Point. *Pakistan Journal of Botany*, 40(4), 1579-1585.
- Ribeiro, H. M., Vasconcelos, E., & dosSantos, J. Q. (2002). Fertilization of potted geranium with a municipal solid waste compost. *Bioresource Technology*, 73(3), 247-249.
- Rosalina, F., Gafur, M.A.A., Irnawati, I., Soekamto, M. H, Sangadji, Z., & Kahar, M. S. (2019). Utilization of Compost and Zeolite as Ameliorant on Quartz Sand Planting Media for Caisim (*Brassica juncea*) Plant Growth. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series*, 1155.
- Roosta, H. R., Ostaji, A., Salari, H., & Vakili Shahre Babaki, M. (2015). Effects of different substrates and salinity on growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* var. italica) in soilless culture. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 6(3), 151-162.
- Sardoei, A. S., Fahraji, S. S., & Ghasemi, H. (2014). Effects of different growing media on growth and flowering of zinnia (*zinnia elegans*). *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(6), 1894-1899.
- Sardoei, A. S., & Rahbarian, P. (2014). Effect of different media on growth indexes of ornamental plants under system mist. *European Journal of Experimental Biology*, 4(2), 361-365.
- Salem, B. A., Nafees, M., Farooq, M., & Sadaqat, H. A. (2003). Genetic variability estimation for growth characteristics in *Zinnia elegans* Jacq Across different population densities. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5(4), 496-498.
- Saleem, A. M., Ahmad, I., Ziaf, K., Khan, A, A. K, Qasim, M., & Mazhar, S, M. (2015). Substrates effect plant growth, flower yield, and quality of stock (*Matthiola incana* L.) and *Zinnia (Zinnia elegans* Jacq.). *Pakistan Journal Life Social Science*, 13(3), 126-131.
- Sharbазhery, A. O. M., & Gareeb, B. A. (2016). Turf grass mixture to some soil amendments (Peat Moss, Perlite and Plant Gel) under sulaimani governorate (Pishder Region) Conditions. *Journal of University of Duhok*, 19(1), 435-449.
- Stamps, R. H., & Evans, M. R. (1997). Growth of *dieffenbachia maculata* 'Camille' in growing media containing sphagnum peat or coconut coir dust. *Hort Science*, 32, 844-847.
- Taherpazir, S., & Hashemabadi, D. (2016). The Effect of cycocel and pot size on vegetative growth and flowering of *Zinnia (Zinnia elegans)*. *Journal of Ornamental Plants*, 6(2), 107-114.

- Thomas, G. W. (1982). Exchangeable cations. In: A. L. Page, R. H. Miller & D. R. Keeney (Eds.) *Methods of Soil Analysis, 2nd edn. Chemical and microbiological properties* (pp 159–164). ASA SSSA Publisher, Madison.
- Turhan, H., Kahraman, F., Egesel, C. Ö., & Gül, M. K. (2007). The effects of different growing media on flowering and corm formation of saffron (*Crocus sativus* L.). *African Journal of Biotechnology*, 6(20), 2328-2332.
- Usanmaz, S., & Abak., K. (2019). Plant growth and yield of cucumber plants grafted on different commercial and local rootstocks grown under salinity stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 1134–1139.
- Younis, A., Ahmad, M., Riaz, A., & Khan, M. A. (2007). Effect of different potting media on growth and flowering of *Dahlia Coccinia* Cv. Mignon. *ISHS Acta Horticulturae 804:Europe-Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems – Eurasia*.
- Wolf, B. (1974). Improvements in the azomethine-H method for the determining of boron. *Commun Soil Science Plant Analysis*, 5, 39-44.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Using Biplot Analysis Technique to Selection in Triticale Breeding Studies

Enver KENDAL*¹

¹Mardin Artuklu University, Kızıltepe Vocational High School, Plant and Animal Production, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-8812-8847>

*Corresponding author e-mail: enver21_1@hotmail.com

Article Info

Received: 11.12.2021

Accepted: 13.03.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.980512

Keywords

Adaptation,
Bi-plot,
Diyarbakir,
Genotype

Abstract: This study was carried out in Diyarbakir conditions with 20 advanced triticale lines and 5 standard varieties in 2012-2013 and 2013-14 growing seasons. According to variance analysis results, the interaction of year, genotype and year*genotype was found to be significant ($p<0.01$; $p<0.05$) in terms of many characteristics. the results showing that plant height was changed 3 237-5 389 kg/ha⁻¹, hectoliter weight is 71.2-78.8 kg/hl⁻¹, thousand grain weight is 28.0-40.2 g, protein content 14.6%-17.2%, the moisture rate in the grain varied between 7.9-8.1%. In terms of traits, many lines used in the research were superior to the varieties used as standard in the experiment. In addition, superior genotypes were determined by considering all characters together with GT biplot technique. In GT biplot technique, PC1 made up 36.83% of the variation, PC2 constituted 19.53% of the variation and 56.36% of the variation in total. According to the results of the research, depending on the ecological factors of the growing seasons, the plants were earlier spiked and reached higher height in the first year; It was determined that grain yield, thousand grain weight and hectoliter weight were higher than the second year, and on the contrary, the protein content was lower than the second year due to high precipitation. It was concluded that biplot analysis techniques facilitate the work of breeders in selection. It has been concluded that the results of a single growing season will be insufficient and the results of two growing seasons may be sufficient to evaluate the cultivar candidates.

To Cite: Kendal, E, 2022. Using Biplot Analysis Technique in Selection in Triticale Breeding Studies. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 186-198. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.980512>

Triticale Islah Çalışmalarında Biplot Analiz Tekniğinin Seleksiyonda Kullanılması

Makale Bilgileri

Geliş: 11.12.2021

Kabul: 13.03.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.980512

Anahtar Kelimeler

Uyum,
Biplot,
Diyarbakir,
Genotip

Öz: Bu çalışma, Diyarbakir şartlarında 2012-2013 ve 2013-14 yetiştirme sezonlarında 20 adet ileri kademede tritikale hattı ve 5 adet standart çeşit ile yürütülmüştür. Araştırma Tesadüf Blokları Deneme Desenine göre yürütülmüş ve araştırmada tane verimi ile bazı kalite ve verim parametreleri incelenmiştir. Varyans analiz sonuçlarına göre birçok özellik bakımından yıl, genotip ve yıl*genotip interaksyonu önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bulunmuştur. Araştırmada her iki yılın ortalamasına sonuçlarına göre genotiplerin başaklanma süreleri 105-115 gün, bitki boyu 98-118 cm, tane verimi 323.7-538.9 kg/da, hektolitire ağırlığı 71.2-78.8 kg/hl, bin tane ağırlığı 28.0-40.2 g, protein oranı %14.6-17.2, tanedeki rutubet oranı %7.9- 8.1 arasında değişmiştir. İncelenen özellikler bakımından araştırmada kullanılan birçok hat denemede standart olarak kullanılan çeşitlere üstünlük sağlamıştır. Ayrıca GT biplot tekniği ile tüm karakterler birlikte ele

alınarak üstün genotipler belirlenmiştir. GT biplot tekniğinde PC1 varyasyonun %36.83, PC2 ise %19.53 ve toplamda varyasyonun % 56.36'sini oluşturmuştur. Araştırma sonuçlarına göre yetiştirme sezonlarının ekolojik faktörlerine bağlı olarak ilk yıl bitkiler daha erken başaklanmış ve daha yüksek boya ulaşmış olup tane verimi, bin tane ağırlığı ve hektolitre ağırlığı ikinci yıla göre daha yüksek, bunların aksine protein oranının ikinci yıla göre yüksek yağışlardan dolayı daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Biplot analiz tekniklerinin seleksiyonda ıslahçıların işini kolaylaştırdığı sonucuna varılmıştır. Çeşit adaylarının belirlenmesi için yapılacak çevre çalışmalarında tek yetiştirme sezonunun sonuçları yetersiz kalacağı ve iki yetiştirme sezonundaki sonuçların çeşit adaylarını değerlendirmek için yeterli olabileceği sonucuna varılmıştır.

1. Giriş

Tritikale (\times *Triticosecale Wittmack*), 1870'lerde İskoçya'da çavdar (*Secale cereale* L.) ile ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) veya durum buğdayın (*T. turgidum* L.) melezlenmesi ile geliştirilen ve türler arası çaprazlamalardan elde edilen insan yapımı ilk tahıl bitkisidir. Başlangıçta (i) A, B (*durum ve turgidum*) ve R (çavdar) genomlarının birleştirilmesinden türetilen hekzaploid tritikale (ii) A, B, D (ekmeklik buğdayı) ve R genomlarını birleştirerek türetilen octoploid tritikale olmak üzere iki tür tritikale geliştirilmiştir. Ancak son zamanlarda ıslahçılar, hekzaploid tritikale ($2n=42=AABBRR$) geliştirmeye odaklanmıştır (Goyal ve ark., 2011). Dünyada 4 000 000 hektar civarında ekim alanı, 13 300 000 ton civarında bir üretime sahip olup dekara verim ortalaması yaklaşık 338 kg.'dır. Sırasıyla Polonya, Almanya, Belarus ve Fransa en fazla tritikalenin üretildiği ülkelerdir. Ülkemizde 2020 yılı verilerine göre ekim alanı 8 111 490 dekar, üretimi ise yaklaşık 276 212 ton olup verim ortalaması 341 kg olduğu bildirilmektedir. Üretim alanı sürekli bir artış gösterirken on yıl önce 298 bin hektar iken 2020 yılı itibarı ile 811 bin hektara ulaşmıştır. Üretim ise 104 bin tondan 276 bin tona yükselmiş verim 315 kg ile 349 kg arasında değişirken 2011 yılı en yüksek verimin kayıt altına alındığı yıl olmuştur (Kendal, 2021). Türkiye'de tahıllar arasında verimi en yüksek olan tahıl bitkisi olduğu bildirilirken, TÜİK verilerinden de anlaşıldığı gibi üretim alanında sürekli bir artış olduğu görülmektedir (Anonim, 2021). Tritikale, kıraç alanları iyi değerlendiren, az gelişmiş ülkelerde ekmek yapımında gelişmiş ülkelerde ise hayvan yemi olarak değerlendirilen bir tahıldır. Türkiye tahıllar konusunda kendi kendine yeterli bir ülke olmasına rağmen gelecekte bu durumunu koruyup koruyamayacağı tartışılmaktadır. Küresel ısınmanın etkileri, nüfusumuzun hızla artması, ekilebilen arazilerin gittikçe daralması, gelecek yıllarda tahılların üretimindeki yetersizliğin muhtemel önemli işaretleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sebeplerden dolayı sürekli artış gösteren yeryüzündeki nüfusun sağlıklı beslenmesini sağlamak için değerlendirilmeyen alanları da farklı tahıl türleri ile değerlendirerek üretime kazandırmak için araştırmacılar yoğun çaba sarfetmektedir (Bağcı ve Ekiz, 1993). Tritikalenin, diğer tahıllara göre farklı çevre koşullarında daha stabil olduğu belirtilmektedir (Mergoum ve ark., 1992). Dünya genelinde oluşan yem açığının giderilmesi için marjinal alanları daha iyi değerlendiren tritikalenin daha geniş alanlarda yetiştirilmesi için yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve bunların yaygınlaştırılmasına ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (Muntzing, 1989; Kendal, 2021). Tritikale bitkisinin Diyarbakır sınırlarında kıraç ve marjinal alanları iyi değerlendirebileceği öngörülmektedir (Kendal ve ark., 2012; Kızılgöçü ve Yıldırım, 2017). Bu anlamda bazı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda kıraç ve marjinal alanlarda tritikale bitkisinin iyi uyum sağladığını bildirmişlerdir (Kendal and Sayar, 2016; Kızılgöçü, 2019; Sirat ve ark., 2020). Diyarbakır ili çevre faktörleri, yetiştirme sezonlarına bağlı olarak çok değişiklik gösterdiği için tercih edilecek tritikale çeşitlerinin stabil olması çok önemlidir (Kendal ve ark., 2016). Bu nedenle kaliteli, verimi yüksek aynı zamanda stabil olan yeni çeşitlerin tercih edilmesi gerekmektedir.

Genotipleri hem stabil olmaları bakımından hem de çok yönlü değerlendirebilmek için son zamanlarda GGE (genotip, genotip x çevre) veya GT (genotipx özellik) biplot metodları kullanılmaktadır. Genotip ana etkisini (G) ve bir genotip çevresinin iki yönlü tablosunun GE'sini aynı anda gösteren bir GGE biplotu (Yan ve ark., 2000), göreceli olarak birçok soruyu görsel genotip ve çevreleri değerlendirmek için ele alabilmektedir. Tek bir GGE biplotu temelinde, çeşitler, bireysel ortamlarda ve çevrelerde performansları, ortalama performans, stabilite, genel veya özel uyarlamalar açısından değerlendirilebilmektedir. Eşzamanlı olarak, çevreler görsel olarak değerlendirilebildiği gibi genotipler arasında ayırım yapma yeteneklerine ve diğer test ortamlarını temsil edebilirliklerine göre

gruplandırılabilir. Gereksiz çevrelerin yanı sıra üstün genotiplerin seçilmesi veya alt genotiplerin ayıklanması için en uygun çevreler görsel olarak tanımlanabilmektedir. Bunlara ilaveten, bir GGE biplotu, her mega-ortam için önemli olan tanımlama ve çeşit önerileri için bir MET (Mega x çevre x özellik) verilerinin "hangi genotip-nereye-uygundur" modeli ile açıklanabilmektedir. Ayrıca, bir genotip x özellik biplotu (Yan ve Rajcan, 2002), genotip x özellik interaksyonuna grafiksel olarak iki yönlü yaklaşır. Böyle bir biplot, özellikler (ıslah hedefleri) arasındaki genetik korelasyonları görselleştirmek için kullanılabilir, bu da genotiplerin ıslahçılar tarafından anlaşılmasını kolaylaştırır. Özellik ilişkilerinin anlaşılması, bir hedef özellik için dolaylı seçimde kullanılabilen ve fazladan ölçülebilen özelliklerin tanımlanmasını da kolaylaştırır. Hem çeşit değerlendirmesi hem de ebeveyn seçimi için önemli olan bireysel genotiplerin avantajlarını ve eksikliklerini görselleştirmek için bir genotip x özellik biplotu da kullanılabilir (Yan ve Tinker, 2005). Yukarıda belirtilen hedeflere ulaşmak için uluslararası ıslah programlarından temin edilen hatlar birbirleri ile standartlarla GGE biplot tekniği vasıtasıyla kıyaslanarak çeşit adayları belirlenmiştir.

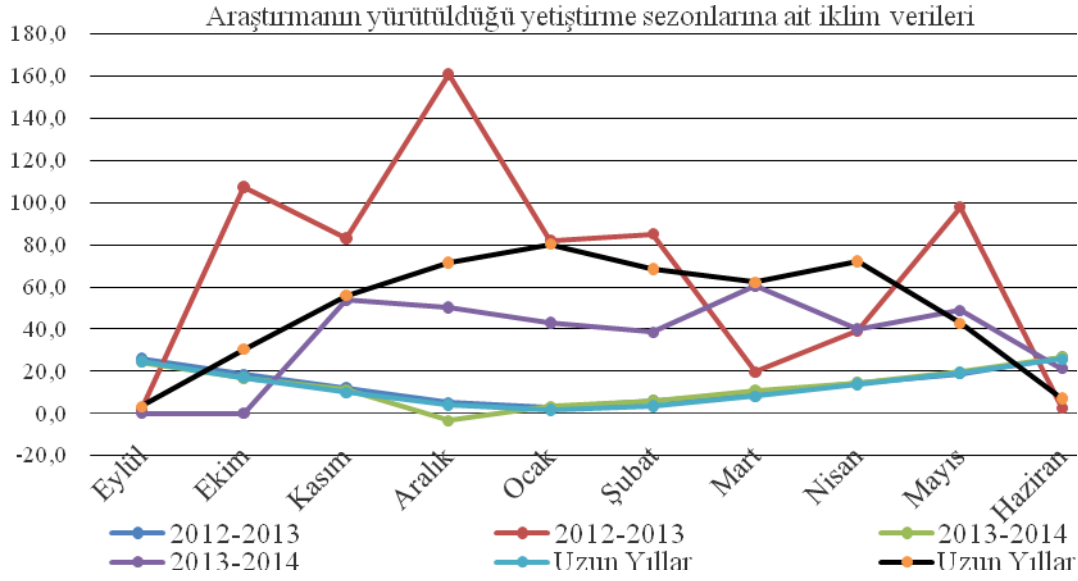
2. Materyal ve Yöntem

Araştırma, 2012-2013 ve 2013-2014 yetiştirme sezonlarında, GAPUTAEM (Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü/Diyarbakır) deneme sahasında yağışa dayalı şartlarda yürütülmüştür. Araştırmada uluslararası programlarından temin edilen 20 hat ile birlikte 5 adet standart çeşit/çeşit adayı kullanılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Ararımda kullanılan çeşitler ve hatların pedigrileri

S.No	Çeşit ve Pedigriler
1	HUI-UB/CENT.....CTSS02B00107T-....
2	CMH82.1082/ZEBRA.....CTSS02B00268T...
3	LIRON_2/5/DISB5.....CTSS02B00413S-....
4	HX87-244/HX87-...CTSS03SH00028S-
5	ADAY3
6	HX87-244/HX87-...CTSS03SH00030S-
7	BULL_10/MANATI_1...CTSS04Y00002S-
8	LIRON_2/5/DIS...CTSS04Y00163S-
9	PRESTO//2*TESMO_CTSS03Y00091T-
10	ADAY13
11	LIRON_2/5/DIS.CTSS03Y00033T-
12	LIRON_2/5/DIS.CTSS03Y00036T-
13	TURACO/CENT..CTSS02B00186T-
14	DRIRA/2*CMH77A.CTSS02B0028T-
15	TACETTİNBEY
16	LIRON_2/5/DIS.CTSS02B00413S-
17	HX87-244/HX87-.CTSS03SH00028S-
18	HX87-244/HX87-.CTSS03SH00030S-
19	LIRON_2/5/DIS.CTSS04Y00163S-
20	KARMA
21	LIRON_2/5/DIS.CTSS04Y00163S-
22	LIRON_2/5/DIS.CTSS03Y00090T-
23	LIRON_2/5/DIS.CTSS03Y00036T-
24	LIRON_2/5/DIS.CTSS03Y00036T-A-
25	PRESTO

Bu araştırma Tesadüf Blokları Deneme Deseninde 3 tekerrürlü olarak toplam 20 adet genotiple yürütülmüştür. Denemede her parselin toplam ekim alanı $1.2 \times 6 = 7.2 \text{ m}^2$ parselin sağ ve solundan 0.5 m kenar tesirine ayrılmıştır. Deneme ekimi Kasım ayında Wintersteiger 2200 (92 model) deneme mibzeri ile yapılmıştır. Taban gübresi olarak 20-20-0 kompoze gübre kullanılarak dekara saf 6 kg/da fosfor (P_2O_5) ve azot (N) gübresi uygulanmıştır. Amonyum nitrat (% 26) gübresi 6 kg/da gelecek şekilde kardeşlenme döneminde üst gübreleme yapılmıştır. Yabancı ot bitkilerinin 2-4 yapraklı oldukları dönemde herbisit uygulanmıştır. Kenar tesiri olarak her parselde ön ve arka kısmından 0.5 m alınmış ve hasat, Hege ile 6 m^2 üzerinden yapılmıştır.



Şekil 1. Diyarbakır ilinin yetiştirme sezonları ile uzun yıllar meteorolojik verileri.

2.2. Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi

Araştırmada; Tesadüf Blokları Deneme Deseninden elde edilen veriler J.M.P 7.0 (Copyright © 2007 SAS Institute Inc.) paket programı kullanılarak Varyans analizleri yapılmış, önemli çıkan faktör ortalamaları önemli çıkanlar A.Ö.F. testine göre gruplandırılmıştır. Ayrıca Genstat 12th paket programı kullanılarak GGE grafikleri oluşturulmuş ve yorumlanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Varyans analiz sonuçlarına göre; protein oranı ve rutubet bakımından yıl*genotip interaksyonu önemsiz, protein bakımından interaksyon ve tane rutubeti bakımından yıl faktörü % 5'e göre önemliyken, diğer parametreler bakımından kalan faktörler ise % 1'e göre önemli bulunmuştur (Çizelge 2). Özelliklere bağlı olarak genotipler arasındaki farklılıklar A.Ö.F testine göre gruplandırılmıştır. Ortalama tane verimi 323.7-538.9 kg/da arasında değişim göstermiş olup en yüksek tane verimi 17 nolu hattan, en düşük tane verimi ise Karma çeşidinden elde edilmiştir (Çizelge 3). Yıllara baktığımızda 1. yıl tane verimi 661.4 kg/da iken ikinci yıl 292.4 kg/da olarak gerçekleşmiş ve birinci yıl ekolojik faktörlere bağlı olarak şartların daha elverişli olması nedeni ile 2. yıla göre neredeyse iki kat daha yüksek verim elde edilmiştir. Denemede kullanılan hatların çoğunun verimli olduğu ve denemede standart olarak kullanılan çeşitlere göre daha yüksek bir ortalamaya sahip oldukları tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Kareler ortalamasına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Tane Verimi	BTA	Hektolitire	Protein	Rutubet
Yıl	4	238420.29**	2573.25**	785.92**	749.758**	2.20*
Hata 1	96	120197.1	4.67601	0.94113	0.99022	0.05353
Genotipler	96	323406.04**	677.922**	264.223**	40.0111**	0.43**
Yıl*Genotip	96	172200.29**	213.851**	48.2683**	31.07öd	0.25841öd
Hata 2	96	141339.5	175.3715	62.1223	33.01293	0.356767
Genel	149	5867594	3660.101	1157.895	865.1569	3.297396

** : p<0.1; * : p<0.5; öd: Önemli Değil.

Çizelge 3. Araştırmada incelenen tane verimi, başaklanma süreleri, bitki boyu ve tanedeki rutubet oranına ait ortalama veriler ve oluşan gruplar

Çeşit/Hat	Tane Verimi(kg/da)			Başaklanma Süresi(gün)			Bitki Boyu(cm)			Tane Rutubeti(%)			
	2012-2013	2013-2014	Ortalama	2012-2013	2013-2014	Ortalama	2012-2013	2013-2014	Ortalama	2012-2013	2013-2014	Ortalama	
1	552.5 h	250.4 gh	401.5 J	105	107	106.0	110	110	110.0 AE	7.67	8.12	7.89	EG
2	590.2 fh	288.2 dh	439.2 GJ	104	108	106.0	95	100	97.5 G	7.64	8.08	7.86	G
3	619.1 eh	293.8 eg	456.4 FI	105	109	107.0	110	110	110.0 AG	7.81	8.13	7.97	BG
4	647.1 cf	306.8 be	477.0 EI	108	108	108.0	100	105	102.5 EG	7.77	8.13	7.95	BG
Aday 3	573.2 gh	303.1 bf	438.1 HJ	103	107	105.0	100	100	100.0 FG	7.97	8.05	8.01	BE
6	650.4 cf	280.1 dh	465.3 FI	110	109	109.5	95	100	97.5 G	7.75	8.06	7.90	EG
7	615.4 eh	339.8 ac	477.6 EH	108	107	107.5	105	115	110.0 AE	7.77	8.12	7.95	BG
8	724.1 ab	306.4 be	515.3 AE	111	107	109.0	107	105	106.0 BG	7.76	7.99	7.87	FG
9	713.2 ac	348.6 ab	530.9 AB	111	108	109.5	115	100	107.5 BF	7.94	8.14	8.04	AC
Aday 13	742.5 a	289.4 ch	516.0 AE	110	111	110.5	110	105	107.5 BF	7.81	8.09	7.95	BG
11	700.3 ad	267.7 eh	484.0 CF	111	112	111.5	115	100	107.5 BF	7.82	8.15	7.98	BF
12	723.7 ab	253.4 fh	488.5 BF	102	111	106.5	120	105	112.5 AD	7.74	8.09	7.92	CG
13	715.1 ac	340.1 ac	527.6 AC	105	112	108.5	107	100	103.5 DG	7.72	8.09	7.90	EG
14	655.8 bf	363.5 a	509.6 AE	105	107	106.0	103	105	104.0 CG	7.77	8.09	7.88	EG
Tacettinbey	622.8 eh	243.4 gh	433.1 IJ	104	109	106.5	120	115	117.5 A	7.73	8.10	7.91	DG
16	755.8 a	291.9 ch	523.9 AD	101	109	105.0	117	110	113.5 AC	7.70	8.00	7.85	G
17	713.5 ac	364.2 a	538.9 A	105	107	106.0	110	100	105.0 CG	7.73	8.13	7.93	BG
18	729.8 a	293.8 eg	511.8 AE	108	110	109.0	100	100	100.0 FG	7.77	8.09	7.93	BG
19	723.6 ab	242.6 h	483.1 DG	110	111	110.5	105	95	100.0 FG	7.95	8.14	8.04	AB
Karma	467.1 ı	180.3 ı	323.7 K	115	115	115.0	120	110	115.0 AB	8.11	8.18	8.14	A
21	684.7 ae	272.9 eh	478.8 EH	103	109	106.0	110	105	107.5 BF	7.92	8.15	8.03	AD
22	628.2 dg	280.9 dh	454.6 FI	106	108	107.0	105	105	105.0 CG	7.70	8.12	7.91	EG
23	638.0 dg	330.1 ad	484.0 CF	108	110	109.0	110	105	107.5 BF	7.92	8.05	7.98	BF
24	746.8 a	275.2 eh	511.0 AE	104	110	107.0	110	105	107.5 BF	7.76	8.09	7.92	BG
Presto	601.6 fh	303.6 bf	452.6 FI	108	107	107.5	110	110	110.0 AE	7.86	8.11	7.98	BF
Ortalama	661.4 A	292.4 B		107	109		108A	105B			7.8B	8.1A	
AÖF(0.5)	72.96**	51.12**	43.97**			4.79ÖD			9.718*				
DK (%)	6.7	10.6	8.04			2.15			4.41				

** : p<0.01; * : p<0.5, AÖF: Aşgari Önemli Fark, DK: Değişim Kat Sayısı.

Karma çeşidinin düşük verime sahip olması ise kışlık çeşit özeliğine sahip olmasında ileri gelmektedir. Araştırmada kullanılan hatların yüksek verimli olması çeşit adaylarını belirlemek için iyi bir avantaj sağlamaktadır. Birçok araştırmacı hem genotip hem de çevrenin etkisinin verimi etkilediğini bildirmekte (Kendal ve Sayar, 2016; Dolgun ve Çiftçi, 2019; Kendal ve ark., 2019; Sirat ve ark., 2020) ve çalışmamızı desteklemektedirler.

Ortalama başaklanma süresi, 105- 115 gün arasında değişim göstermiş, Karma çeşidi en geç başaklanırken, 16 nolu hat ise en erken başaklanmıştır. Yılların başaklanma süreleri birbirinden farklı olup 1. yıl ortalama 107 gün, ikinci yıl 109 gün olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Ekstrem yıllar hariç özellikle kuraklıktan etkilenmemek için Diyarbakır şartlarında erkenci ve orta erkenci hatlar tercih edilmektedir. Yapılan gözlemlerde denemede kullanılan hatların çoğu orta erkenci olduğu özellikle sıcaklık veya kuraklık etkisinden kaçabilecekleri öngörülmektedir. Kuraklık gelmeden tanesini dolduran hatlarda tane verimi yüksek olmaktadır (Kendal ve ark., 2016; Boru, 2020).

Çizelge 4. Hektolitreye ağırlığı, bin tane ağırlığı ve tanedeki protein oranına ait ortalama veriler ve oluşan gruplar

Çeşit/Hat	Hektolitreye Ağırlığı(kg/hl)			Bin Tane Ağırlığı(g)			Protein Oranı(%)		
	2012-2013	2013-2014	Ortalama	2012-2013	2013-2014	Ortalama	2012-2013	2013-2014	Ortalama
1	73.7 k	68.6 ı	71.2 J	47.5 a	26.9 eg	29.7 IJ	14.9	18.8	16.8 AB
2	75.6 jk	72.7 eh	74.1 HI	32.5 j	31.3 bc	33.5 CH	14.1	18.3	16.2 AE
3	81.2 ab	73.1 dg	77.1 BE	35.8 gj	28.7 cf	33.5 CH	12.0	18.6	15.3 DG
4	77.1 hj	70.3 hı	73.7 I	38.4 ch	29.4 be	34.9 BF	12.8	19.1	16.0 BF
Aday 3	78.8 cı	73.8 cg	76.3 CF	40.5 bf	28.7 cf	32.3 FI	12.6	17.2	14.9 FG
6	79.1 bh	73.3 cg	76.2 CF	35.9 gj	30.0 be	34.1 BH	13.1	18.7	15.9 BF
7	77.7 dj	74.7 ae	76.2 CF	38.1 dh	35.6 a	36.1 BC	12.9	16.3	14.6 G
8	78.9 ch	72.2 fh	75.6 EH	36.6 fi	25.4 fh	31.5 HI	12.1	18.7	15.4 DG
9	79.5 ag	71.7 gh	75.6 EH	37.6 dı	29.6 be	36.5 B	13.2	16.9	15.1 EG
Aday 13	79.8 ad	75.2 ad	77.5 AD	43.4 b	32.9 ab	40.2 A	14.2	19.2	16.7 AC
11	78.6 cı	72.5 eh	75.5 EH	37.1 eı	27.0 dg	32.1 GI	12.4	19.1	15.7 BG
12	79.7 ae	72.7 eh	76.2 CF	41.1 be	28.9 cf	35.0 BF	12.8	19.8	16.3 AD
13	79.2 ah	72.8 dg	76.0 DG	40.9 be	29.6 be	35.2 BE	12.6	18.5	15.5 CG
14	81.3 ab	76.4 ab	79.0 A	40.5 bg	28.4 cf	34.3 BH	13.0	18.1	15.6 BG
Tacettinbey	76.6 ij	72.2 fh	74.4 GI	40.4 bf	29.2 be	34.8 BG	13.6	17.8	15.7 BG
16	81.3 a	74.3 bf	77.8 AC	40.6 bf	30.5 be	35.5 BE	12.9	18.3	15.6 CG
17	77.5 ej	73.0 dg	75.3 FI	41.6 bd	29.4 be	35.5 BE	12.7	17.0	14.8 FG
18	77.4 fj	71.6 gh	74.5 GI	40.8 be	28.8 cf	34.8 BG	12.4	18.8	15.6 CG
19	78.9 ch	71.7 gh	75.3 FH	33.9 ij	22.2 h	28.0 J	12.1	19.1	15.6 CG
Karma	77.4 gj	71.4 gh	74.4 GI	35.9 gj	24.2 gh	30.0 IJ	13.6	20.8	17.2 A
21	79.6 af	72.4 eh	76.0 DG	35.4 hj	24.5 gh	29.9 IJ	11.4	17.8	14.6 G
22	77.4 fj	72.4 eh	74.9 FI	42.4 bc	30.8 bd	36.6 B	12.6	18.2	15.4 DG
23	80.6 ac	77.1 a	78.8 A	40.5 bf	31.2 bc	35.9 BD	12.4	17.9	15.1 DG
24	80.5 ac	75.6 ac	78.0 AB	38.9 ch	27.7 cg	33.3 DH	12.6	18.9	15.7 BG
Presto	78.5 cı	73.3 cg	75.9 DG	38.1 dh	27.6 cg	32.9 EH	12.8	18.4	15.6 CG
Ortalama	78.6 A	73.0 B		39 A	28.7 B		12.9 B	18.4 A	
AÖF(0.5)	2.19**	2.4968**	1.64**	4.08**	3.8365**	2.75**	0.86öd	2.27öd	1.07**
DK (%)	1.4	1.7	1.5	5.1	6.5	5.71	3.3	6.0	5.35

** : p<0.01; * : p<0.5, AÖF: Aşgari Önemli Fark, DK: Değişim Kat Sayısı.

Ortalama bitki boyu uzunluğu, 98- 118 cm arasında değişim göstermiş, 2 ve 5 nolu genotipler en kısa, Tacettinbey çeşidi ise en uzun boya ulaşmıştır. Yılların başaklanma süreleri birbirinden farklı olup 1. yıl ortalama 108 cm, ikinci yıl 105 cm olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Boy uzunluğu ile yatma doğrusal bir ilişki içerisinde olup yüksek boylu çeşitlerde daha fazla yatma görülmektedir. Ancak araştırmada kullanılan genotiplerde yatma görülmemiş olup bu genotiplerin yatmaya karşı dayanıklı olduğunu göstermektedir (Kendal ve ark., 2016; Dolgun ve Çiftçi, 2019; Boru, 2020).

Ortalama tane rutubeti, % 7.9- 8.1 arasında değişim göstermiş, en geç başaklanan Karma çeşidinin rutubet değeri en yüksek, 2 nolu genotipin rutubet değerinin en düşük olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3). Yılların rutubet değerleri farklı gerçekleşirken 1. yıl ortalama % 7.8, ikinci yıl ise 8.1 olarak belirlenmiştir. Tanedeki rutubet oranı çeşidin erkenci veya geçciliğinden kaynaklanabileceği gibi hasat zamanı, sulama dönemine veya gübrelemeye bağlı olarak da değişebilmektedir. Hasada yakın dönemde yağmurlu geçerse veya tam olgunlaşma dönemine girmeden hasat yapılırsa o zaman tanedeki rutubet oranı yüksek çıkar. Tane rutubeti depolama için oldukça önemli olup kurak ve sıcak geçen bölgelerde bu sorun olmasa da 9-13 arasında olması istenmektedir.

Ortalama hektolitre ağırlığı 71.2-79.0 kg/hl arasında değişim göstermiş olup en yüksek hektolitre ağırlığı 14 nolu hattan, en düşük hektolitre ağırlığı ise 1 nolu hattan elde edilmiştir (Çizelge 4). Yıllara baktığımızda 1. yıl hektolitre ağırlığı 78.6 kg/hl iken ikinci yıl 73.0 kg/hl olarak gerçekleşmiş ve birinci yıl ekolojik faktörlere bağlı olarak şartların daha elverişli olması nedeni ile özellikle nişasta dolum döneminin yağışlara bağlı olarak serin geçmesi 2. yıla göre daha yüksek hektolitre ağırlığı elde edilmiştir. Denemede kullanılan hatların birçoğu yüksek hektolitre ağırlığına sahip oldukları ve denemede standart olarak kullanılan çeşitlere göre daha yüksek bir ortalamaya sahip oldukları tespit edilmiştir. Hektolitre ağırlığı hem genotip özelliğinden hem de çevre faktörlerinden etkilenmektedir. Bu konuda birçok araştırma yapılmış ve araştırmamıza paralel sonuçlar elde edilmiştir (Kendal ve ark., 2019)

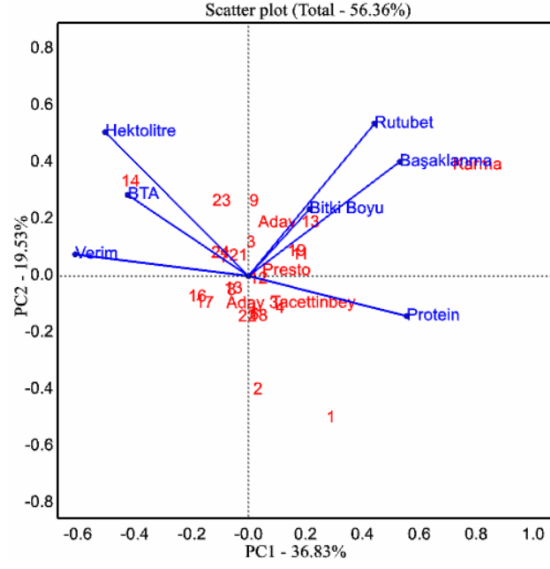
Ortalama bin tane ağırlığı 28.0-40.2 g arasında değişim göstermiş olup en yüksek bin tane ağırlığı Aday 13'ten, en düşük bin tane ağırlığı ise 19 nolu hattan elde edilmiştir (Çizelge 4). Yıllara baktığımızda 1. yıl hektolitre ağırlığı 39.0 g iken ikinci yıl 28.7 g olarak gerçekleşmiş ve birinci yıl ekolojik faktörlere bağlı olarak şartların daha elverişli olması nedeni ile özellikle nişasta dolum döneminin yağışlara bağlı olarak serin geçmesi 2. yıla göre daha yüksek bin tane ağırlığı elde edilmiştir. Bin tane ağırlığı yetiştirme sezonundaki bahar aylarında düşük yağış ve yüksek sıcaklıkların oluşmasından etkilenebileceği ve bu konuda daha önce yaptıkları çalışmalarda bin tane ağırlığının bir çeşit özelliği olduğu ancak yıllara ve iklime göre değişebileceğini bildirerek (Kendal ve ark., 2012; Kendal ve ark., 2016) çalışmamızı teyit etmişlerdir.

Ortalama protein oranı % 14.6-17.2 arasında değişim göstermiş olup en yüksek protein oranı denemede standart olarak kullanılan Karma çeşidinden, en düşük protein oranı ise 7 ve 21 nolu hatlardan elde edilmiştir (Çizelge 4). Yıllara baktığımızda 1. yıl protein oranı % 12.9 iken ikinci yıl % 18.4 olarak gerçekleşmiş ve birinci yıl ekolojik faktörlere bağlı olarak ekolojik şartların daha serin geçmesi ve ikinci yılın kurak geçmesi nedeni ile 2. yıla göre daha düşük protein oranları elde edilmiştir. Protein oranı genetik bir özellik olsa da çevreden çok etkilenen ve yetiştirme sezonların serin geçmesi protein oranını düşürürken kurak geçmesi ise protein oranını yükseltmektedir (Kaplan ve ark., 2011; Kendal ve ark., 2012; Kendal ve ark., 2016; Oral ve ark., 2020).

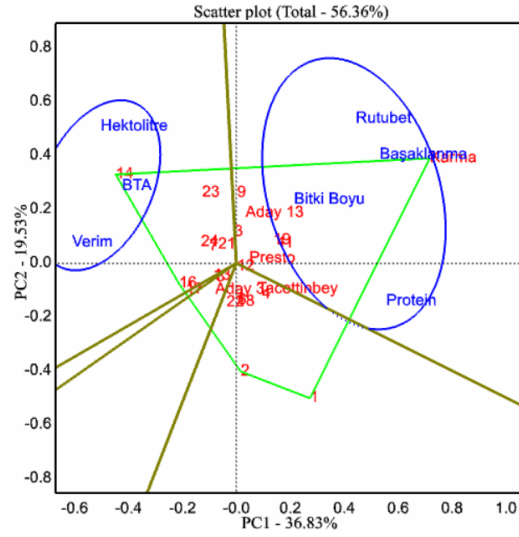
3.1. GGE Biplot' a Dayalı Mega Çevrelerin Değişimi

3.1.1. GT biplot tekniği ile Genotipler ile özellikler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi

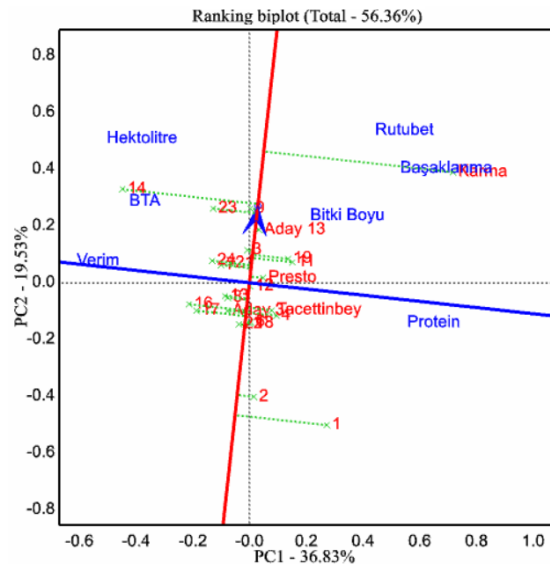
GT biplot tekniğinde hem özellikler arasındaki ilişki hem de genotip özellik arasındaki ilişki açıklanmaktadır. İki özelliğe ait vektörler arasındaki açı değeri ($>0^{\circ}$ - $<90^{\circ}$) daraldıkça pozitif, açı değeri (90° - $<180^{\circ}$) arttıkça negatif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Kendal ve ark., 2016; Kendal ve Sayar, 2016; Kendal, 2021). Ayrıca genotiplerin özelliklere göre konumlamaları da hangi genotipin hangi özellikler bakımından yüksek değerlere sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 2). Özellikle 14 nolu genotipin tane verimi, bin tane ve hektolitre ağırlıkları bölgesinde yer alarak bu parametreler bakımından tatminkar olduğunu göstermektedir. Ayrıca 1 ve 2 nolu genotipler ise tane verimi ve protein oranının kesiştiği bölgede yer alarak hem iyi protein hem de yüksek tane verimine sahip olduklarını, Karma çeşidinin başaklanma süresi, bitki boyu ve tane rutubeti bölgesinde yer alarak geçici, uzun boylu ve hasatta yüksek tane nemine sahip olduğunu, tam merkezde yer alan genotiplerin ise tüm özelliklerin ortalaması bakımından orta değerlere sahip olduklarını göstermektedir. Öbür taraftan tane verimi ile bin tane ve hektolitre ağırlıklarına ait vektörler arasındaki açı değeri oldukça dar olup bu özellikler arasında yüksek bir pozitif korelasyon ilişkisi, tane verimi ile protein oranı arasında ise geniş bir açı olup ikisi arasında negatif korelasyon ilişkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 2). Ayrıca sektör analizi ile hem özellikler gruplandırılmış hem de her sektör ve özellik grubu için en uygun genotipler belirlenmiştir (Şekil 3).



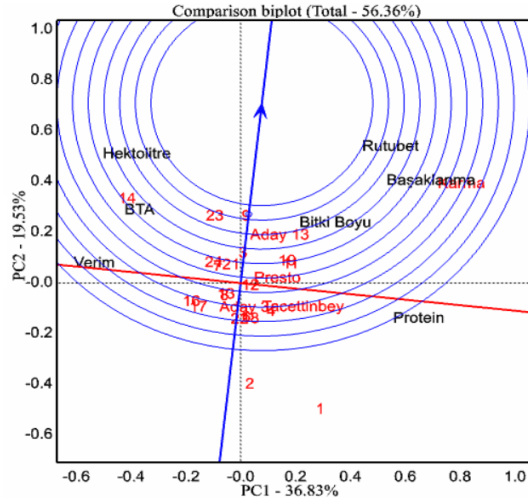
Şekil 2. Genotipler ile özellikler arasındaki ilişki.



Şekil 3. Genotiplerin özellikler bakımından gruplandırılması.



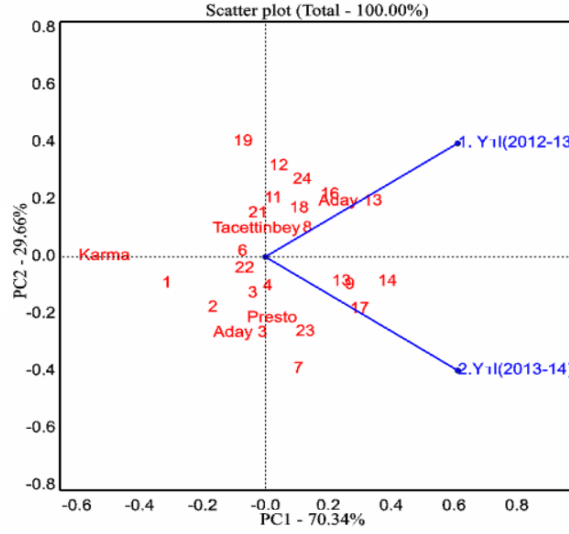
Şekil 4. Genotiplerin özellikler bakımından sıralanması.



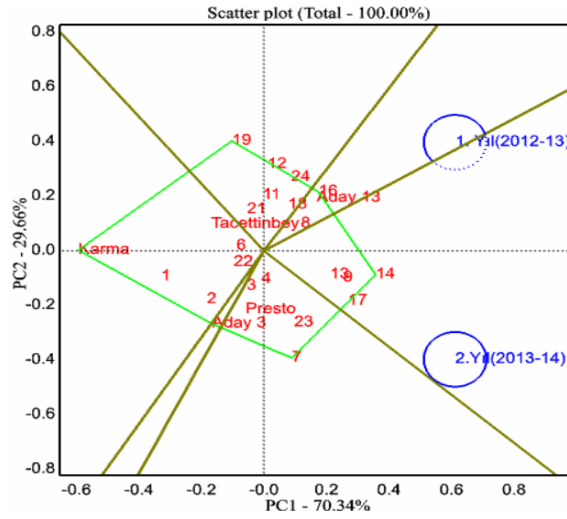
Şekil 5. Genotiplerin özellikler bakımından ideal merkeze göre sıralanması.

Araştırmada incelenen özellikler sektör analizinde incelendiğinde özellikler iki ayrı sektörde ve iki grupta toplanmışlardır. İlk grup tane verimi, hektolitre ve bintane ağırlığından oluşurken, araştırmada incelenen diğer parametreler ise ikinci grupta yer aldıkları görülmektedir. Özellikle tane verimi, bin tane ağırlığı ve hektolitre ağırlığı aynı sektörde yer alarak aynı grubu oluşturmuş olup 14 nolu genotipin tam bu grubun ve sektörün merkezinde yer aldığı dolayısıyla bu parametreler bakımından üstün olduğunu göstermektedir. Karma çeşidi ise diğer parametrelerin oluşturduğu ikinci grubun merkezinde yer alarak oldukça zayıf sonuçlara sahip olduğunu göstermektedir. 1 ve 2 nolu genotipin ise hiçbir özelliğin yer almadığı sektörde yer alarak hiçbir özellikte yüksek bir korelasyon içerisinde olmadığını göstermektedir. Özelliklerin yer almadığı sektörlerde yer alan genotiplerin özellikler bakımından zayıf olduklarını söylemek mümkündür. Araştırmada incelenen tüm özelliklerin ortalama verileri üzerinden stabilite çizgisini oluşturulan ve genotipleri bu stabilite çizgisine göre sıralayan ranking biplot metodu Şekil 4’ te gösterilmiştir. Çok özellikli çalışmalarda tüm özellikler bakımından genotipleri stabilite(yatay) ve ortalama (dikey) temel eğrilerine göre sıralayan bir modeldir. Bu açıklamalar doğrultusunda Şekil 4’te 3 ve 9 nolu genotip tüm özellikler bakımından en stabil, Karma çeşidi ise stabilitesi en zayıf olan genotipler olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bazı genotipler (1, 2 nolu genotipler) eğrinin (dikey eğri) altında kaldıkları için iyi performans sergilemedikleri için seleksiyonda elenirken dikey eğrinin üzerinde ve yatay eğriye yakın olan stabil genotipler (14 ve 23 nolu genotipler) iyi performans gösteren genotipler oldukları için seleksiyonda seçilebileceklerini göstermiştir. Ayrıca GT biplot tekniğinde özelliklerin ortalamasına göre oluşturulan ideal merkeze göre genotipler sıralanabilmektedir (Şekil 5). Buna göre 9 nolu genotip ideal merkeze en yakın bölgede yer aldığı için en ideal genotip oldukları tespit edilmiştir. GT biplot tekniği görsel olarak ilişkileri yorumlamada bize oldukça kolaylık sağladığı için seleksiyonda rahatlıkla kullanılan faydalı bir teknik olduğu görülmektedir. Bu konuda yaptıkları araştırma sonuçlarında bu tekniğin faydalı olduğu birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Butnaru ve ark., 2014; Kaya ve Ozer, 2014; Ponomarev ve ark. 2018; Kendal ve ark., 2019;Stoyanov; 2021).

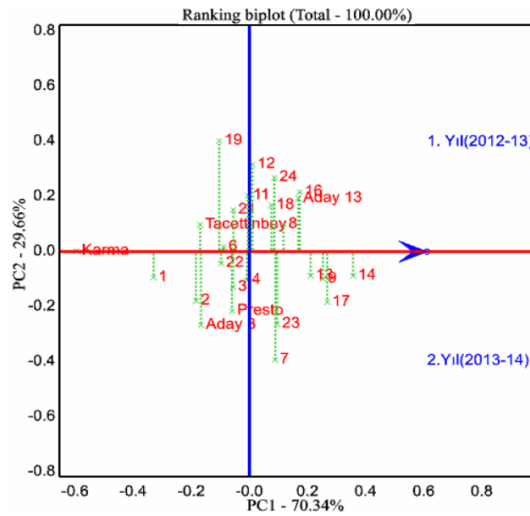
Şekil 6, 7, 8 ve 9 iki farklı yetiştirme sezonunda yürütülen çalışmada genotip x çevre etkileşimi üzerinden iki yönlü verim tablosuna dayalı GGE biplotunu göstermektedir.



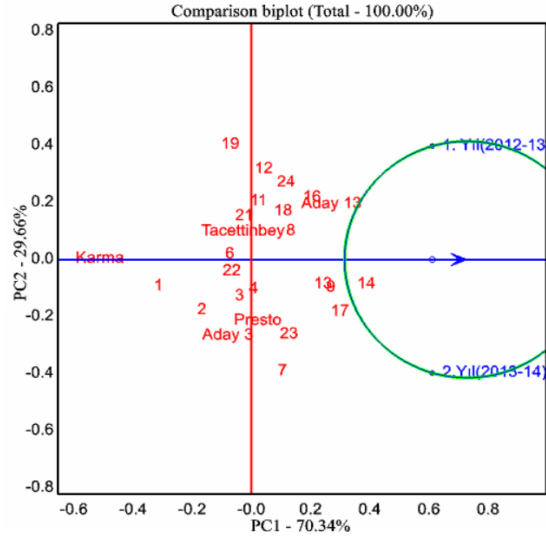
Şekil 6. Yıllar ve genotip - yıl ilişkisi.



Şekil 7. Yılların sektör analizi ile gruplandırılması genotiplerin yıllara göre konumu.



Şekil 8. Genotiplerin yetiştirme sezonları bakımından stabilitesi.



Şekil 9. Genotiplerin yetiştirme sezonları bakımından ideal merkeze göre sıralanması.

Çevreye göre standardize edilmiş veriler kullanıldığı için genotip değerlendirmesinde tüm çevrelerin eşit derecede önemli olduğu varsayılır. Çevreye odaklı tekil değer bölümlenmesi için çevreler arasındaki ilişkilerin uygun şekilde görselleştirilmesine olanak tanınmaktadır. Bu biplot, GGE' nin tamamını (%100) açıklamış ve bu veri kümesindeki genotipler için GGE' nin oldukça basit olduğunu göstermiştir. Toplam varyasyondaki PC1'in etkisi %70.34'e karşı PC2' nin değeri %29.66 olarak açıklanmış ve GGE biplotuna bağlı GGE modellerini yeterince açıklayabileceğini göstermiştir. Şekil 6, iki farklı yetiştirme sezonu arasındaki ilişki ile genotip yetiştirme arasındaki ilişkisi hakkında bilgi vermektedir. Görsel olarak her iki yetiştirme sezonunun çok yakın ilişki içerisinde olmadığı ve birbirinden farklılık gösterdiği genotiplerin seleksiyonunda ayrı birer çevre olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Genotipleri tüm özelliklerin ortalaması bakımından her iki yetiştirme sezonuna göre değerlendirdiğimizde 7, 17 ve 23 gibi genotipler özellikle 2013-14 yetiştirme sezonu için 16,18, 24 ve Aday 13 gibi bazı genotipler ise 2012-13 yetiştirme sezonu için daha iyi sonuçlara sahip olduğu ve benzer ekolojik şartlara sahip yıl ve lokasyonlara önerilebileceği ve seleksiyonda seçilebileceği, 1 nolu genotip ile Karma çeşidi ise hiçbir çevre veya yıl için uygun sonuçlara sahip olmadığını dolayısıyla bu çevreler için önerilemeyeceğini göstermektedir (Şekil 6). Genotiplerin ortalamalarına göre mega-çevrelerin belirlenmesi bundan sonra yapılacak çalışmalarda benzer olan çevrelerin saf dışı bırakılarak, çalışma maliyetlerini artıran ve farklılık oluşturmayan çevrelerin gereksiz yere kullanılmaması gerektiğini ortaya koymaktadır (Şekil 7).

Bu anlamda yapılan sektör analizinde 6 sektör oluşmuş ve her bir yılı tanımlayan çevreler farklı sektör ve mega-grupta yer alarak çevrelerin farklılıklarını ortaya koymuştur. Çevreler ile aynı sektörde yer alan genotiplerin (17, Aday 13 gibi) ilgili yetiştirme sezonlarda iyi sonuçlara sahip olduklarını, çevrelerden farklı sektörlerde yer alan genotiplerin (19 ve Karma gibi) ise ilgili yetiştirme sezonlarında öne çıkmadıklarını göstermektedir. Araştırmada incelenen tüm özelliklerin ortalama verileri üzerinden stabilite çizgisini oluşturulan ve genotipleri bu stabilite çizgisine göre sıralayan ranking biplot metodu Şekil 8' de gösterilmiştir. Çok özellikli çalışmalarda tüm özellikler bakımından genotipleri Stabilite (yatay) ve ortalama (dikey) temel eğrilerine göre sıralayan bu modele göre 14 nolu genotip tüm özellikler bakımından hem stabil hem de iyi sonuçlara sahip olduğunu göstermektedir. Bu genotipi 9, 13 ve 17 nolu genotipler takip etmiştir. Yine ortalamanın üzerinde ancak stabil olmayan 7 ve 12 nolu genotipleri rahatlıkla gözlemleyebildiğimiz gibi stabil olmayan aynı zamanda ortalamanın altında kalan genotipleri de (19, Aday 3) rahatlıkla eleyebiliriz. Ayrıca genotipler özelliklerin ortalamasına göre oluşturulan ideal merkeze göre sıralanabilmektedir (Şekil 9). Buna göre sadece 14 nolu genotip ideal merkezde yer alarak oldukça ideal bir genotip olduğu, 9, 13 ve 17 nolu genotipler de en yakın bölgede yer aldıkları için bu genotipten sonra tercih edilebileceği ayrıca ortalama dikey eğrinin üzerinde ve altında yer alan genotipleri rahatlıkla gözlemleyerek seçilecek ve elenecek olan genotiplerin belirlenmesinde bize oldukça kolaylık sağladığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bir çok araştırmacının sonuçları tarafından doğrulanmaktadır (Butnaru ve ark., 2014; Liu ve ark., 2018; Bocianowski ve ark., 2021).

4. Sonuç ve Öneriler

Diyarbakır yağışa dayalı şartlarda iki yıl süre ile yürütülen ve orta yağış alanlara yönelik geliştirilen yazlık bazı genotiplerin ülkemizde mevcut bazı çeşit ve adaylar ile kıyaslandığı bu çalışmada, test edilen genotipler içerisinde verimli ve tatminkâr kalite özelliğine sahip 10 adet genotip (8, 9, 11, 13, 14, 16, 17, 18, 23, 24) seçilerek tritikale ıslah programlarında kullanılmak üzere bir ileri kademeye aktarılmış olup 14 nolu genotipin oldukça iyi sonuçlara sahip olduğunu ve iyi bir çeşit adayı olabileceği sonucuna varılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, standartlarla kıyasladığımızda hem verim hem de kalite özelliği bakımından araştırmada kullanılan bir çok genotipin daha üstün olduğu sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın yürütülmesinde her türlü desteği sunan GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü yöneticilerine ve Serin İklim Tahılları/Buğday Arpa Islah şubesi elemanlarına teşekkür ederim.

Kaynakça

- Anonim.01.12.2021.<http://www.tuik.gov.tr>
- Bağcı, S. A ve Ekiz, H. (1993). *Tritikalenin insan ve hayvan beslenmesindeki yeri*. Konya'da hububat tarımının sorunları ve çözüm yolları sempozyumu, *Bildiri Özetleri*, 12-14 Mayıs 1993. Konya.
- Bocianowski, J., Tratwal, A., & Nowosad, K. (2021). Genotype by environment interaction for main winter triticale varieties characteristics at two levels of technology using additive main effects and multiplicative interaction model. *Euphytica*, 217(2), 1-30.
- Boru, K. 2020. *Bazı ileri kademe tritikale hatalarının Bursa ekolojik koşullarında verim ve kalite yönünde araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi).
- Butnaru, G., Sarac, I., & Ciulca, S. (2014). Relationship among yield and plant specific traits on triticale Romanian varieties in Timisoara environment. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 79(4), 201-210.
- Dolgun, C., & Çifci, E. A. (2019). Bursa ekolojik koşullarında yetiştirilen bazı tritikale çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(5), 664-670.
- Goyal, A., Beres, B. L., Randhawa, H. S., Navabi, A., Salmon, D. F., & Eudes, F. (2011). Yield stability analysis of broadly adaptive triticale germplasm in southern and central Alberta, Canada, for industrial end-use suitability. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(1), 125-135.
- Kaplan, M., Kökten, K., Akçura, M., Bakoğlu, A., & Kavurmacı, Z. (2011). *Bazı tritikale çeşit ve hatlarının ot verimleri ve ot kaliteleri üzerine araştırma*. IX. Türkiye Tarla Bitkileri Kongresi, Cilt 3:191-196, 12-15/09/2011, Bursa.
- Kaya, Y., & Ozer, E. (2014). Parametric stability analyses of multi-environment yield trials in triticale (*xTriticosecale Wittmack*). *Genetika*, 46(3), 705-718.
- Kendal, E. (2021). *Comparison of the spring Triticale candidate with common varieties*. 3rd International Halich Congress on Multidisciplinary Scientific Research, Conference Proceedings Book, P:585-597, August 15-16, 2021.
- Kendal, E., & Sayar, M. S. (2016). The stability of some spring triticale genotypes using biplot analysis. *J. Anim. Plant Sci*, 26(3), 754-765.
- Kendal, E., Sayar, M. S., Tekdal, S., Aktas, H., & Karaman, M. (2016). Assessment of the impact of ecological factors on yield and quality parameters in triticale using GGE biplot and AMMI analysis. *Pakistan Journal Botany*, 48(5), 1903-1913.
- Kendal, E., Tekdal, S., & Karaman, M. (2019). Proficiency of biplot methods (AMMI and GGE) in the appraisal of triticale genotypes in multiple environments. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(3), 5995-6007.
- Kendal, E., Tekdal, S., Aktaş, H., Karaman, M., Ahmet A. (2012). Güneydoğu Anadolu yağışa dayalı şartlarında yazlık Triticale hatlarının tarımsal özelliklerinin belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 1(1)39-46.

- Kızılgeçi, F., Akıncı, C., Albayrak, Ö., Yıldırım, M. (2017). Triticale hatlarında bazı fizyolojik parametrelerin verim ve kalite özellikleriyle ilişkilerinin belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1): 337-345.
- Kızılgeçi, F. (2019). Assessment of yield and quality of some Triticale genotypes in South-Eastern Anatolia. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(1), 545-551.
- Kızılgeçi, F., & Yıldırım, M. (2017). Bazı tritikale (*X Triticosecale Wittmack*) genotiplerinin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4(1), 43-49.
- Liu, J., Song, Q., Tian, X., & Liu, H. (2018). Evaluation of the adaptability of triticale genotypes using membership function and GGE-biplot analysis. *Acta Prataculturae Sinica*, 27(5), 85-96.
- Mergoum M, Ryan J, Shroyer J P, Monem, M A (1992). Potential for adapting triticale in Morocco. *Journal of Natural Resources and Life Sciences Education*, 21(2): 137-141.
- Muntzing A (1989). Triticale results and problems. Advances in plant breeding. Supplement to Journal of Plant Breeding. Verlag Paul Parey. Berlin and Hamburg. 103 p.
- Oral, E., Ülker, M., Altuner, F., & Özdemir, B. (2020). Van ekolojik koşullarında tritikale (*x Triticosecale wittmack*) çeşitlerinde anıza ve normal ekimin verim ve verim unsurları Üzerine Etkisinin Araştırılması. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 4(4), 756-774.
- Ponomarev, S. N., Ponomareva, M. L., & Tagirov, M. S. (2018). Evaluation of phenotypic stability of winter triticale varieties by grain yield by biplot analysis. *Crop Husbandry*, P:34-38.
- Sirat, A., Bahar, B., & Bahar, N. (2020). Doğu Karadeniz Bölgesi karasal iklim ve kuru tarım koşullarında Triticale (*x Triticosecale Wittmack*) çeşitlerinin tane verimi ve verim unsurları üzerinde bir araştırma. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9(2), 134-146.
- Stoyanov, H. (2021). Environment adjusted yield model for ranking and stability assessment of winter triticale (*X Triticosecale Wittm.*) Genotypes. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 5 (1), 141-157.
- Yan, W., & Rajcan, I. (2002). Biplot analysis of test sites and trait relations of soybean in Ontario. *Crop science*, 42(1), 11-20.
- Yan, W., & Tinker, N. A. (2005). An integrated biplot analysis system for displaying, interpreting, and exploring genotype× environment interaction. *Crop Science*, 45(3), 1004-1016.
- Yan, W., Hunt, L. A., Sheng, Q., & Szlavnic, Z. (2000). Cultivar evaluation and mega - environment investigation based on the GGE biplot. *Crop science*, 40(3), 597-605.



Inhibitory Effect of Rosemary Essential Oil and Its Nanoemulsion on the Formation of Biogenic Amines by Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Bacteria

Yılmaz UÇAR^{*1}, Mustafa DURMUŞ², Esmeray KÜLEY³, Koray KORKMAZ⁴

^{1,4}Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, 52400, Ordu, Türkiye

^{2,3}Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 01330, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-6770-6652>, ²<https://orcid.org/0000-0002-2836-5154>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0655-0105>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-2940-6592>

*Corresponding author e-mail: yucar@cu.edu.tr

Article Info

Received: 11.12.2021

Accepted: 08.03.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1035443

Keywords

Bacteria,
Biogenic amine,
Essential oils,
Decarboxylase broth,
Nanoemulsion

Abstract: The effect of nanoemulsions based on rosemary essential oil (BNE) and its purified version (BEO) on the growth of fish spoilage bacteria (*P. luteola*, *P. damsela*, *V. vulnificus*, *E. faecalis*, *S. liquefaciens*, and *P. mirabilis*) and foodborne pathogens (*S. Paratyphi A*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, and *E. faecalis*) and their biogenic amine formation were investigated in tyrosine decarboxylase broth (TDB) using HPLC method. The flavour compounds of extracted BEO were determined using GC-MS. Physical properties of BNE (viscosity, thermodynamic stability, droplet size, and surface tension) were analysed. Tween 80, BEO, and BNE were inhibitory effects on the growth performances of the pathogenic and spoilage bacteria. Differences in ammonia (AMN) and biogenic amine (BA) production among groups were statistically significant ($p < 0.05$). The highest HIS production was obtained by spoilage *E. faecalis* (58.76 mg L^{-1}) and the lowest by *V. vulnificus* (2.29 mg L^{-1}). Almost all other BAs such as PUT, CAD, SPD, and PHEN were formed by pathogens and spoilage groups. *S. aureus* ($143.05\text{-}702.88 \text{ mg L}^{-1}$) was the main high tyramine (TYR) producer in TDB. HIS production by *V. vulnificus* was considerably suppressed in the presence of BNE ($p < 0.05$). Although the effect of treatment groups (Tween 80, BEO, and BNE) varied depending on the bacterial strain and specific amine, all groups generally decreased AMN and BA accumulation by bacteria. Consequently, the results show that all bacteria tested are capable of decarboxylating more than one amino acid and conversion of rosemary oil into nanoemulsion suppressed BA production activity and its nano-form can be used as an alternative antimicrobial agent in processed or packaged fish or food products.

To Cite: Uçar, Y, Durmuş, M, Küley, e, Korkmaz, K, 2022. Inhibitory Effect of Rosemary Essential Oil and Its Nanoemulsion on the Formation of Biogenic Amines by Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Bacteria. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 199-212. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1035443>

Biberiye Esansiyel Yağı ve Nanoemülsiyonunun Balıkta Bozulma Etmeni Bakteriler ile Gıda Kaynaklı Patojenik Bakteriler Tarafından Üretilen Biyojenik Aminler Üzerine Etkilerinin incelenmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 11.12.2021

Kabul: 08.03.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1035443

Anahtar Kelimeler

Bakteri,
Biyojenik amin,
Esansiyel yağlar,
Dekarboksilaz sıvısı,
Nanoemülsiyon

Öz: Biberiye esansiyel yağı (BEO) ve nanoemülsiyonunun (BNE) balıkta bozulma etmeni bakteriler (*P. luteola*, *P. damsela*, *V. vulnificus*, *E. faecalis*, *S. liquefaciens* ve *P. mirabilis*) ve gıda kaynaklı patojenik bakterilerin (*S. Paratyphi A*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis*) gelişimi ve biyojenik amin (BA) üretimleri üzerine etkileri tirozin dekarboksilaz sıvısında (TDB) HPLC yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Ekstrakte edilmiş BEO uçucu bileşenleri GC-MS kullanılarak belirlenmiştir ve elde edilen BNE'nun fiziksel özellikleri (viskozite, termodinamik kararlılık, damlacık boyutu ve yüzey gerilimi) analiz edilmiştir. Tween 80, BEO ve BNE, patojen ve bozucu bakterilerin büyüme ve gelişme performanslarına inhibe edici yönde etkili olmuştur. Gruplar arasında amonyak (AMN) ve biyojenik amin (BA) üretiminde istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). En yüksek histamin (HIS) üretimi, bozucu *E. faecalis* (58.76 mg L^{-1}) suşunda ve en düşük *V. vulnificus* (2.29 mg/L) suşunda gözlenmiştir. Putresin (PUT), kadaverin (CAD), spermidin (SPD) ve 2-fenilettilamin (PHEN) gibi hemen hemen tüm diğer BA'ler patojenler ve bozulma grupları tarafından üretilmiştir. *S. aureus*, en yüksek tiramin (TYR) üreten ($143.05\text{-}702.88 \text{ mg L}^{-1}$) suş olmuştur. *V. vulnificus* tarafından HIS üretimi, BNE varlığında önemli ölçüde baskılanmıştır ($p<0.05$). Muamele gruplarının (Tween 80, BEO ve BNE) etkisi bakteri suşuna ve spesifik amine bağlı olarak değişse de, tüm muamele grupları genel olarak bakteriler tarafından AMN ve BA üretimini azaltmıştır. Sonuç olarak, mevcut çalışma test edilen tüm bakterilerin birden fazla amino asidi dekarboksile etme yeteneğine sahip olduğunu, biberiye esansiyel yağının nanoemülsiyona dönüştürülmüş formunun biyojenik amin üretimlerini baskıladığını ve bunun işlenmiş veya paketlenmiş balık veya gıda ürünlerinde alternatif bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

1. Giriş

Pek çok gıda kaynaklı hastalık, patojenik mikroorganizmalarla kontamine olmuş gıdaların tüketimiyle sonuçlanmaktadır (Uçar, 2020a; Korkmaz ve ark., 2021). Gıda kaynaklı bakterilerle ilgili ekonomik zarar ve sağlık riskini azaltmada en etkili yaklaşım gıdaları antimikrobiyal ajanlarla muamele etmektir. Gıdalarda doğal katkı maddelerinin kullanımına olan ilgi gıda firmaları ve tüketiciler tarafından artmaktadır. Bu yüzden temel odak konusu sentetik alternatifleri yerine güvenli ve daha etkili doğal antimikrobiyaller olmuştur (Al-zoreky ve Al-Taher, 2015). Özellikle şifalı bitkiler ve diğer bitkisel kaynaklardan izole edilen esansiyel yağlar ve içeriklerinin mikroorganizmaların büyümesini yavaşlatmada etkili oldukları gözlenmiştir (Pereira ve ark., 2014). Son zamanlarda en çok dikkati çeken esansiyel yağlardan biri de biberiye uçucu yağıdır. Biberiye, Lamiaceae ailesindedir. Yapraklarından ve uçucu yağından yararlanır. Biberiyenin esansiyel yağı ya da ekstraktları et ürünlerinde, yağ içeren gıdalarda, yağlarda oksidasyona ve ransiditeye karşı kullanılabilir. Antioksidan özelliği, yapısında bulunan karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asitten kaynaklanmaktadır. Biberiye esansiyel yağının ana bileşenleri; 1.8-cineole, α -pinene, camphor, camphene, borneol, piperitone, linaloldur.

Gelişmiş ülkelerde toplumun büyük bir kısmı gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklara maruz kalmaktadır. Söz konusu bu mikroorganizmaların ürettikleri istenmeyen bileşiklerinden olan biyojenik aminler, insan ve hayvanlarda hastalığa yol açan toksik maddelerdir. Bu aminler balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır (ten Brink ve ark., 1990). Biyolojik olarak aktif aminler sinir ve metabolizma gibi biyolojik sistemlerde önemli fonksiyonlara sahip olmalarından dolayı önemlidir. Biyojenik aminler aynı zamanda kanseri tetikleyici etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu aminler aynı zamanda gıda kalitesini belirlemede bir gösterge sağlamaktadır. Ancak vücudun tolere edebileceği limitlerin üzerinde olması akut toksisite gibi ölüme kadar varabilecek ciddi problemlere de neden

olmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda gıda kökenli patojenlerin gelişimini azaltma yönünde çeşitli metotlar geliştirilmeye çalışılmaktadır (Telli ve ark., 2006). Bunlar arasında nanoteknoloji ve emülsiyon uygulamalarının kombine kullanımları dikkat çekmektedir (Özogul ve ark., 2016; 2017; 2020; Uçar, 2020b)

Antimikrobiyal ajan olarak bitki esansiyel yağlarının kullanımı oldukça yüksek uçucu oluşları, güçlü kokulu olmaları, suda az çözünmeleri ve mikroorganizmalar ile direk etkileşimlerinde sınırlı özelliklerinden dolayı pek çok potansiyel sakıncaları vardır (Ghosh ve ark., 2014). Bu dezavantajlar birçok gıda ve içecek uygulamaları için saf esansiyel yağların uygulamalarını şimdilik sınırlamaktadır. Uygun kolloidal dağıtım sisteminde esansiyel yağların enkapsülasyonu veya emülsiyonları bu sınırlamaların pek çoğunun üstesinden gelebilir. Su içinde yağ nanoemülsiyonları, enkapsüle etmede ve esansiyel yağ gibi hidrofobik bileşiklerin dağılımında kullanılan en etkili kolloidal sistemlerden biridir (Salvia-Trujillo ve ark., 2015). Bu nanoemülsiyonlar sıvı ortam içinde dağılan küçük yağ damlacıklarından oluşmaktadır. Nanoemülsiyonlar bakteri, mantar ve virüslere karşı geniş antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Majeed ve ark., 2015). Nanoemülsiyon tabanlı dağıtım sistemi yüksek yüzey-hacim oranı ve küçük partikül boyutundan dolayı enkapsüle edilmiş esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesini artırabilir (Salvia-Trujillo ve ark., 2015). Özellikle küçük partikül boyutu antimikrobiyal hücre kaplama ve fostolipid membran alt tabakasına ulaşma açısından parçacığın penetre olma kabiliyetini artırabilir. Nanoemülsiyonlar aynı zamanda bilinen emülsiyonlardan daha iyi ve uzun süre fiziksel stabiliteye sahip olma eğilimindedirler. Bu da pek çok gıda ve içecek ürünleri içinde kullanımı açısından önem arz etmektedir (McClements & Rao, 2011).

Donsi ve ark. (2012), farklı esansiyel yağ bileşenlerinden oluşan nanoemülsiyonların *Escherichia coli*, *Lactobacillus delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* gibi 3 farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini önemli ölçüde etkilediği rapor edilmiştir. Chang ve ark. (2012), lipit fazında % 60 mısır yağı içeren kekik nanoemülsiyonlarının *Z. bailii* gelişimine karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) 375 µg mL⁻¹ iken, % 90 mısır yağı içeren kekik nanoemülsiyonları için bu değer 6000 µg mL⁻¹ olarak belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda gıda endüstrilerinde nanoemülsiyonların önemli bir antimikrobiyal ajan olarak görev alacağı bildirilmiştir. Literatür çalışmalarına bakıldığı zaman bu konuda ülkemizde ve dünyada sınırlı sayıda çalışma bulunduğu görülmektedir. Bu çalışmada biberiye esansiyel yağı ve bu yağ kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların gıda kaynaklı patojen ve balıkta bozucu bakterilerin ürettiği biyojen aminlere karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve oldukça tatmin edici sonuçlar bulunmuştur. Sistem içindeki esansiyel yağ formu dikkate alındığında, bunun antibakteriyel özellikleri nanoemülsiyon sistemine dahil edilerek geliştirilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bakteriyel suş izolasyonu ve identifikasyonu

Balık bozucu bakterilerin (*P. damsela*, *E. faecalis*, *V. vulnificus*, *P. mirabilis*, *S. liquefaciens*, *P. luteola*) izolasyonu ve tanımlanması Yazgan ve ark., (2019) tarafından tanımlandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bakteriler, Akdeniz'de yakalanan üç bozulmuş balık türü olan uskumru (*Scomber scombrus*), hamsi (*Engraulis engraulis*) ve sardalya (*Sardinella aurita*) ve Adana yakınlarındaki yerel bir çiftlikten elde edilen gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nden elde edilmiştir. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700603), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (Rockville, USA), *Salmonella Paratyphi A* (NCTC13) ise Tıp Kültürleri Ulusal Koleksiyonundan (Londra, Birleşik Krallık) temin edilmiştir.

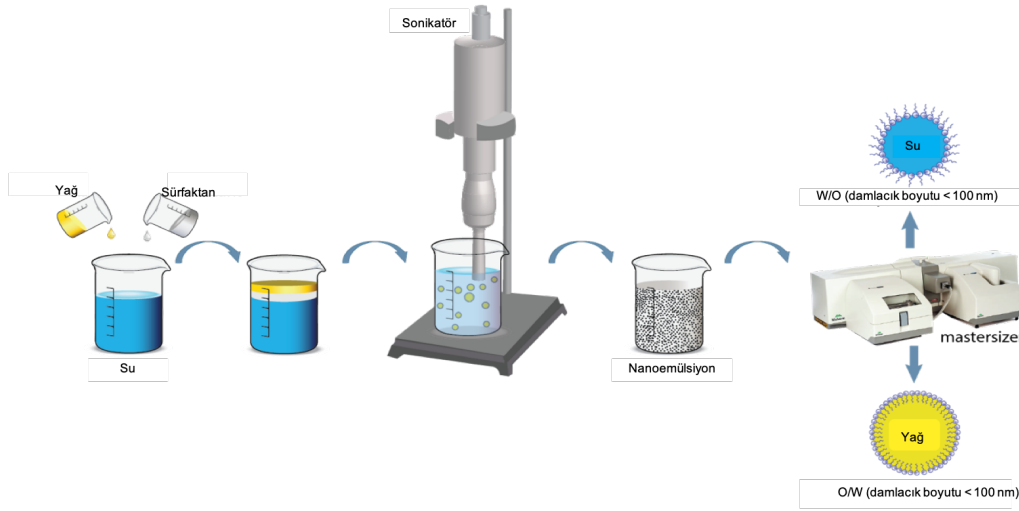
2.2. Uçucu yağ eldesi ve bileşimi

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) uçucu yağları BIOMESI (Adana, Türkiye) firmasından elde edilmiştir. Esansiyel yağ kompozisyonunun tanımlanması, Yazgan ve ark., (2019) tarafından detaylı olarak tarif edildiği gibi Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS, Perkin Elmer Clarus 500, Waltham, ABD) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

2.3. Nanoemülsiyon hazırlanması

Biberiye esansiyel yağı (su içinde yağ) bazlı nanoemülsiyon, ultrasonik emülsifikasyon temelli yüksek enerjili bir işlemle Özogul ve ark. (2017) tarafından bildirilen yöntemle göre küçük

modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır. Suda yağ nanoemülsiyonu, toplam nanoemülsiyonun %11'ini oluşturan bir yağ fazı ve toplam nanoemülsiyonun % 89'unu oluşturan su fazı kullanılarak hazırlanmıştır. Nanoemülsiyon, biberiye esansiyel yağının Tween 80 (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Almanya) ve su ile 10:1:89 w/w oranında karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra emülsiyonlar ultrasonik homojenizatör (Optic Ivymen System CY-500, Barselona, İspanya) kullanılarak 72 amplitüde (titreşim genliği) 15 dakika homojenize edilmiştir. Ultrasonik homojenleştiricinin gücü 500 W ve yayılan ultrasonun frekansı 20 KHz olmuştur. Enerji girişi, 1/4 inç titanyum alaşımlı prob (5.6 mm çap (Ø) ve 60 mm yükseklik) içeren bir piezoelektrik dönüştürücü içeren bir sonotrot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sırasında, emülsiyonun ürettiği ısı, beher etrafında buz kullanılarak kontrol edilmiştir. Ultrasonikasyon yöntemiyle biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun üretimi için şematik diyagram Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Ultrasonikasyon yöntemiyle biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun üretimi için şematik diyagram.

2.4. Nanoemülsiyonların fiziksel özellikleri

Biberiye esansiyel yağ nanoemülsiyonlarının fiziksel özelliklerinin tüm ölçümleri 25 °C'de Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez laboratuvarlarından hizmet alımı yapılarak analiz edilmiştir. Nanoemülsiyonun ortalama damlacık boyutu ve polidispersite indeksi, Malvern Panalytical Mastersizer 2000 (Malvern, İngiltere) kullanılarak analiz edilmiştir. Termodinamik stabilite, Shafiq ve ark., (2007) tarafından önerilen yöntem kullanılarak 14 gün boyunca analiz edilmiştir. Nanoemülsiyonun viskozitesi, ARES reometre (TA Instruments, New Castle, ABD) ile ölçülmüştür. Nanoemülsiyonun yüzey gerilimi Attension Theta gonyometre (Biolin Scientific, Espoo, Finlandiya) ile ölçülmüştür.

2.5. Tirozin dekarboksilasyon sıvısının hazırlanması ve bakterilerin aşılması

Bu çalışmada kullanılan tüm gıda kaynaklı patojenik suşlar ile bozucu bakterilerin biyojenik amin üretimleri, tirozin dekarboksilaz sıvısı (TDB) kullanılarak incelenmiştir. TDB, 1 g pepton, 0.5 g Lab-Lemco tozu (Oxoid CM0017, Hampshire, İngiltere), 2.5 g NaCl (Merck 1.06404.1000, Darmstadt, Almanya), 4.01 g L-tirozin (Sigma, Steinheim, Almanya) ve 500 mL distile su içerisinde 2.5 mg piridoksal HCl (Sigma P9130, Steinheim, Almanya) pH (5.5 - 6.8), 1M KOH (Riedel-deHaen 06005, Seelze, Almanya) veya % 6 TCA (Riedel-deHaen 27242, Seelze, Almanya) ile optimum büyüme pH'larına göre ayarlanmıştır. Bu aşamadan sonra TDB, 10 ml'lik şişelere konularak kullanılmadan önce 15 dakika içinde 121°C'de otoklavlanmıştır. Daha sonra stok kültürlerden 0.5 mL alınarak, biyojenik amin üretmesi için TDB'ye inoküle edilmiştir. Bu şekilde kullanılan her bir bakteri türünün özellikle, histamin (HIS), kadaverin (CAD), tiramin (TYR), triptamin (TRPT), 2- feniletilamin (PHEN), agmatin (AGM), putresin (PUT), spermin (SPN), spermidin (SPD), dopamin (DOP) ve serotonin (SER) üretim kapasitesi belirlenmiştir. Kontrol grubunda TDB içerisine herhangi bir emülsiyon katkısı olmamıştır.

2.6. Toplam bakteriyel gelişimin belirlenmesi

TDB içinde oluşturulan muamele sayısı toplamda 4 gruptan oluşmaktadır. Bunlar, kontrol grubu (herhangi bir katkı olmayan), Tween 80 (%1) grubu, BEO (% 1 biberiye esansiyel yağı) grubu ve BNE (% 1 biberiye esansiyel yağı kullanılarak hazırlanmış nanoemülsiyon) grubudur. TDB'de gelişen her bir bakteriyel kültürden 0.1 ml alınarak uygun seyreltikler hazırlanmış (10^{-10} 'a kadar), sonrasında Plate Count Agar üzerine aşılama yapılmıştır. Petri kutuları 37 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir.

2.7. Biyojenik amin analizleri

Biberiye esansiyel yağı ve bu yağ kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların bozucu ve patojen bakterilerin amino asit dekarboksilasyon aktivitesi üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla biyojen amin analizi (Özoğul, 2004) gerçekleştirilmiştir. Biyojen aminlerin türevlendirilme işlemi için Redmond ve Tseng (1979) metodu kullanılmıştır. Biyojen amin üreten bakterilerin gelişimi Niven besiyeri (Niven ve ark., 1981) kullanılarak belirlenmiştir.

2.8. İstatistik analiz

İstatistik analizler SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL. USA) kullanılarak yapılmıştır. $p < 0.05$ olarak tanımlanan önemli farklılıkları belirlemek için ANOVA kullanılmıştır. Her muamele grupları için üç tekrarlı olarak istatistik karşılaştırma yapılmıştır.

3. Bulgular

3.1. Biberiye uçucu yağının kimyasal bileşimi

Biberiye esansiyel yağı uçucu bileşenlerinin GC-MS analizi, 11 bileşik olarak tanımlanmıştır (Çizelge 1). 1.8-Cineole, diğer yazarlar tarafından bildirilene benzer bir düzey olan toplam tanımlanmış bileşiklerin % 53.08'ini oluşturan mevcut ana bileşiktir (Özoğul ve ark., 2017). Biberiye esansiyel yağında 1.8-cineole (% 27.6) önemli oranda içerdiği bildirilmiştir (Nowak ve ark. 2012). % 1'den daha yüksek miktarlarda bulunan diğer bileşikler arasında α -pinene (% 11.57), camphor (% 8.96), caryophyllene (% 4.54), b-myrecene (% 3.96), borneol (% 3.46) ve camphene (% 3.01) bulunmaktadır. Bu maddelerin de oldukça güçlü antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bununla beraber literatürde farklı biberiye esansiyel yağı içeriklerinin olduğu bilinmektedir. Bitkilerin uçucu yağ bileşiminin genetik, çevresel faktörler, gelişim aşaması ve ekstraksiyon yöntemlerine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Özoğul ve ark., 2017).

Çizelge 1. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) esansiyel yağının kimyasal bileşimi

Bileşik adı	(%)
α -Pinene	11.57
1.8-Cineole	53.08
Camphor	8.96
β - Pinene	1.25
b-Myrecene	3.96
Caryophyllene	4.54
Camphene	3.01
α -Terpineol	1.96
Borneol	3.46
Terpinene-4-Ol	1.05
Bornyl Acetate	1.78

3.2. Biberiye uçucu yağı nanoemülsiyonunun fiziksel özellikleri

Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyonun fiziksel özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Tween 80 (% 1 w/w) ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık boyutu (Z-ortalama) ortalama 447.6 nm bulunmuştur. Bulgularımızın diğer araştırma çalışmalarıyla karşılaştırılmasıyla, bu çalışmada test edilen biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyonun damlacık boyutunda Özoğul ve ark., (2017)

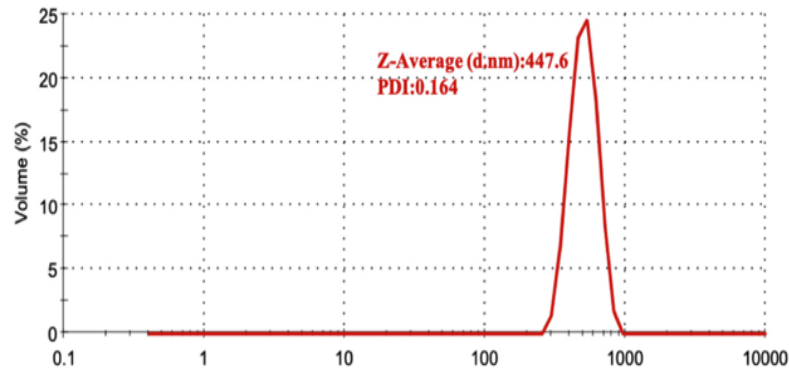
tarafından yapılan çalışmada bildirilen sonuçlara göre (63.02 nm) bir artış olduğu gözlenmekte ve bunun nedeninin ise emülsifiye edici madde olarak kullanılan Tween 80'nin konsantrasyonlarının % 3'ten % 1'e (w/w) düşürülmesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, su içinde yağ emülsiyonlarının hazırlanmasında iyonik olmayan yüzey aktif maddeler olarak kullanılan Tween 80 uygulaması, emülsiyonun hidrofilik-lipofilik dengesi açısından dengede olmuştur (Chu ve ark., 2020). Ayrıca, polimer bazlı yüzey aktif maddelerle karşılaştırıldığında, küçük molekülü bir yüzey aktif madde olarak Tween 80, damlacık yüzeyinde adsorbe etmede daha etkili olmuştur (Chu ve ark., 2020).

Öte yandan viskozite, nanoemülsiyonun fizikokimyasal karakterizasyonunda kullanılan çok önemli bir parametredir. Araştırmamızda viskozite 0.88 N s m^{-2} olarak bulunmuştur. Nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesi üzerinde viskozitenin büyük bir etkisi vardır. Bu nedenle, bu çalışmada incelenen biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun viskozitesi, emülsiyon stabilitesini arttırmaktadır. Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyonun yüzey gerilimi ise 33.93 N m^{-1} olarak bulunmuştur. Önceki araştırmalar, biberiye esansiyel yağ bazlı nanoemülsiyonunun yüzey gerilimi (32.55 N/m) hakkında benzer bir veriye sahip olduğunu bildirmiştir (Özogul ve ark., 2017). Ayrıca, biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonu, oda sıcaklığında 15 günlük depolama sırasında iyi termodinamik stabilite sergilemiştir.

Çizelge 2. Biberiye esansiyel yağı kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonunun fiziko-kimyasal özellikleri

Sıcaklık (°C)	25
Viskozite (N s m^{-2})	0.88
Yüzey gerilimi	33.93
Termodinamik stabilite	++
Damlacık boyutu (nm)	447.6

Biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun PDI'si Şekil 2'de verilmiştir. PDI değeri, damlacıkların partikül boyutu dağılımı olarak tanımlanabilir. Sıklıkla, PDI değerleri 0.0'dan (tek tip damlacık) 1.0'a (çeşitli damlacık boyutu popülasyonlarına sahip numune) uzanır. Küçük bir PDI değeri, dar bir parçacık boyutu dağılımını temsil eder. Bu çalışmada biberiye uçucu yağı için PDI değeri 0.164 olarak bulunmuştur. Ayrıca sonuçlar göstermiştir ki, elde edilen PDI değeri, yüzey aktif madde konsantrasyonlarına ve nanoemülsiyonun geliştirilmesi için kullanılan sulu faz miktarına ve ayrıca ultrasonik emülsifikasyonun etkisine bağlı olmuştur (Chu ve ark, 2020).



Şekil 2. Biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun parçacık boyutu dağılımı ve PDI değeri.

3.3. Tirozin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim

Tirozin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim Çizelge 3'te verilmiştir. Kontrol grubunda bakteriyel gelişim $8.06 \text{ log kob ml}^{-1}$ (*P. damsela*) ile $9.05 \text{ log kob g}^{-1}$ (*S. aureus*) arasında değişkenlik göstermiştir. Test edilen gruplar arasında genellikle en düşük bakteriyel yük, BEO grubunda gözlenmiştir.

Çizelge 3. Tirozin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim (log kob ml⁻¹)

	Bakteri	Gruplar			
		Kontrol	Tween 80	BEO	BNE
Gıda kaynaklı patojenik bakteri	<i>S. aureus</i>	9.05±0.2 ^x c	9.03±0.3 ^c	7.51±0.2 ^a	8.57±0.3 ^b
	<i>K. pneumoniae</i>	8.94±0.4 ^c	8.74±0.6 ^a	8.84±0.1 ^b	8.86±0.1 ^b
	<i>S. Paratyphi A</i>	9.07±0.5 ^d	8.99±0.5 ^c	8.07±0.0 ^b	7.77±0.1 ^a
	<i>E. faecalis</i>	8.53±0.2 ^d	8.33±0.0 ^c	7.86±0.3 ^a	8.14±0.2 ^b
Balık bozucu bakteri	<i>P. damsela</i>	8.06±0.0 ^c	8.14±0.0 ^d	7.26±0.2 ^a	7.41±0.1 ^b
	<i>E. faecalis</i>	8.97±0.1 ^c	8.77±0.1 ^b	8.97±0.1 ^c	8.68±0.4 ^a
	<i>V. vulnificus</i>	9.02±0.4 ^b	8.98±0.1 ^{ab}	9.10±0.1 ^c	8.94±0.1 ^a
	<i>P. mirabilis</i>	8.48±0.1 ^c	8.41±0.2 ^{bc}	8.18±0.2 ^a	8.32±0.1 ^b
	<i>S. liquefaciens</i>	8.99±0.3 ^d	8.87±0.1 ^c	8.43±0.1 ^b	7.80±0.2 ^a
	<i>P. luteola</i>	8.93±0.2 ^b	9.01±0.2 ^c	8.88±0.2 ^b	8.82±0.1 ^a

BEO: Biberiye esansiyel yağı, BNE: Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyon.

^xOrtalama değer, ± standart sapma, n=3. Aynı satır üzerindeki farklı harfler (a-d) istatistiksel farkı göstermektedir.

Biberiye esansiyel yağı ve nanoemülsiyonu TDB'de kontrol ve Tween 80'e göre daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olmuştur. Çalışmada, muamele gruplarının etkisi bakteri türüne göre değişkenlik göstermesine karşın BEO diğer test edilen gruplara kıyasla bakteriyel gelişimde yüksek inhibisyon aktivite sergilemiştir. Biberiye esansiyel yağı yüksek flavonoid maddeler içermesinden dolayı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Bu çalışmada kullanılan suşlar arasında bakteriyel gelişimi en fazla azaltan grup BEO olmuştur. BEO'yu takiben sırayı BNE almıştır. Gıda kaynaklı patojenik bakteriler tamamı tüm muamele gruplarından negatif yönde etkilenmiş ve bakteriyel gelişimleri azalmıştır. En fazla gelişimi azalan suş 1.54 log kob ml⁻¹ azalış ile *S. aureus* (BEO grubunda) sonrasında 1.30 log kob ml⁻¹ azalış ile *S. Paratyphi A* (BNE grubunda) gelmektedir. Gelişimi en fazla olan grubun ise Tween 80 olduğu gözlenmiştir. Balık bozucu bakteriler arasında ise kontrol grubuna kıyasen muamele grupları arasında gelişimi artan ve azalan suşlar olduğu tespit edilmiştir. Tween 80 grubunda *P. damsela* ile *P. luteola* ve BEO grubunda *V. vulnificus* suşlarının tamamı 0.08 log kob ml⁻¹ artış ile gelişimi artan suşlar olmuşturlardır. Fakat bu artışlar istatistiksel olarak önemsiz kabul edilmişlerdir (p<0.05). En fazla gelişimi azalan suş 1.19 log kob ml⁻¹ azalış ile *S. liquefaciens* (BNE grubunda) sonrasında 0.80 log kob ml⁻¹ azalış ile *P. damsela* (BEO grubunda) gelmektedir. En yavaş gelişimi azalan suş 0.04 log kob ml⁻¹ azalış ile *V. vulnificus* (Tween 80 grubunda) sonrasında 0.05 log kob ml⁻¹ azalış ile *P. luteola* (BEO grubunda) ve sonrasında ise 0.07 log kob ml⁻¹ azalış ile *P. mirabilis* (Tween 80 grubunda) gelmektedir. Patojenik bakterilerde olduğu gibi bozucu bakteriyel suşlarında gelişimlerinin en fazla olduğu grup Tween 80 olmuştur.

Literatüre bakıldığında biberiye esansiyel yağı ve nanoemülsiyon formlarının gıdalara uygulanması ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır. Fakat benzer çalışmalara rastlamak mümkündür. Bunlarda daha çok antimikrobiyal analiz çalışmaları olup biyojen amin üretimi üzerine odaklanılmamıştır. Abdollahzadeh ve ark., (2014) kekik, biberiye ve tarçından elde ettikleri esansiyel yağların *L. monocytogenes* PTCC 1163 suşuna karşı antibakteriyel aktivitelerini ölçmüşler ve oldukça etkili olduklarını bildirmişlerdir. Yine Özogul ve ark., (2020) kekik yağının nanoemülsiyona dönüştürülmesinin Yazgan ve ark., (2019) limon yağının nanoemülsiyona dönüştürülmesinin antibakteriyel aktiviteyi arttırdığını rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere aromatik bitki yağları ve ekstraktlarının içeriği ve kalitesi ekolojik koşullar, yağın ekstrakte edilmiş şekli ve diğer faktörlerine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Mevcut çalışmada da genel olarak bakıldığında muamele grupları olan Tween 80, BEO ve BNE, kullanılan patojen ve bozucu bakterilerin büyüme ve gelişme performanslarına TDB'de inhibe edici yönde etkili olmuştur. Biberiye esansiyel yağının fenol içeriği nanoemülsifiye edilmiş formundan daha yüksek olmasına rağmen, grupların antimikrobiyal etkinliği farklılık göstermiştir. Bu farklılık, mikrobiyal büyüme ve hayatta kalma üzerindeki etkinin bir sonucu olarak, büyüme ortamı ile birlikte çalışan ekstrelerin saf veya nanoemülsifiye çözünür bireysel bileşenlerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir.

3.4. Tirozin dekarboksilaz sıvısında AMN, TMA ve biyojen amin üretimi

Biberiye esansiyel yağı kullanılarak oluşturulan su içerisinde yağ nanoemülsiyonu ile biberiye esansiyel yağının TDB'de gıda kaynaklı patojen ve balık bozucu bakterilerin ürettiği AMN, TMA ve biyojen aminler üzerindeki etkisi Çizelge 4 ve 5'te verilmiştir. Esansiyel yağların bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi esansiyel yağın içerdiği kimyasal bileşiklere göre farklılıklar gösterebilmektedir. *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus spp.*, *K. pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* ve *E. faecalis* gibi gıda kaynaklı patojenlerin amonyak ve biyojen amin üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Gokdogan ve ark., 2012; Kuley ve ark., 2012). Çalışmamızda TDB içerisinde patojen ve bozucu bakteriyel üyeler arasında AMN, TMA ve diğer biyojenik aminler üretimi bakımından farklılıklar bulunmuştur.

Biberiye'nin kullanılan tüm formları gıda kaynaklı patojenik bakterilerin AMN üretimini önemli ölçüde inhibe etse de en fazla inhibisyon *S. aureus* (kontrol, Tween 80, BEO ve BNE grupları için sırasıyla 288.79 mg L⁻¹, 69.44 mg L⁻¹, 25.29 mg L⁻¹ ve 18.60 mg L⁻¹) suşunda gözlenmiştir. Gokdogan ve ark. (2012) histidin dekarboksilaz sıvısında AMN üretiminin en düşük *L. monocytogenes* (68 mg L⁻¹) ve en yüksek *E. coli* (210 mg L⁻¹) tarafından gerçekleştiğini bulmuşlardır. Lizin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojenler 965 mg L⁻¹'den daha düşük amonyak üretmiştir. Mevcut çalışmamızda AMN üretimi 18.60 - 834.68 mg L⁻¹ aralığında tespit edilmiştir. Gıda kaynaklı patojenler arasında AMN üretimi açısından fazla dalgalanma gözlenmemesine karşın sadece *S. Paratyphi A* suşunda Tween 80'in AMN üretimini teşvik ettiğini, *E. faecalis* suşunda ise biberiye'nin nanoemülsiyon formununun (BNE) esansiyel yağdan (BEO) daha az etkili olduğu gözlenmiştir. Bozucu bakteriler arasında da benzer şekilde *E. faecalis* suşunda Tween 80'in, *P. luteola* suşunda BNE grubunun ve *V. vulnificus* ile *S. liquefaciens* suşlarında da BEO grubunun AMN üretimini teşvik ettiğini, *P. damsela* ve *E. faecalis* suşlarında ise BNE'nin BEO'dan daha az etkili olduğu tespit edilmiştir.

Kullanılan muamele gruplarında bakteri türüne bağlı olarak putresin (PUT) üretiminde dalgalanmalar gözlenmiştir. Fakat buna rağmen hiçbir grup, kontrolden daha yüksek miktarda PUT üretimini stimüle etmemiştir. En fazla inhibisyon gözlenen suşlar gıda kaynaklı patojenler arasında *S. Paratyphi A* ve *E. faecalis*'te gözlenirken bozucu bakteriler arasında bu inhibisyon *V. vulnificus* ile *S. liquefaciens* suşlarında gözlenmiştir. Kadaverin (CAD) üretimine bakıldığında kullanılan tüm muamele grupları gıda kaynaklı patojen ve bozucu bakterilerin üretimini inhibe ederken üretim değerleri 1.55 mg L⁻¹ (BEO grubu patojen *E. faecalis*) ile 65.24 mg L⁻¹ (kontrol grubu *S. aureus*) aralığında bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında *K. pneumoniae* suşunun Tween 80 ve BEO grubu ile bozucu *E. faecalis* suşunun kontrol-Tween 80 ve BNE-BEO grupları kendi aralarında benzer CAD üretimine neden olmuşlardır ve bu üretim miktarları istatistiki açıdan önemsiz olmuştur (p<0.05). CAD üretiminde gözlenen en fazla inhibisyon sırasıyla *P. damsela* (yaklaşık 11 kat), *K. pneumoniae* (yaklaşık 10 kat) ve *S. Paratyphi A* (yaklaşık 9 kat) suşlarında olmuştur. Durlu-Ozkaya ve ark. (2001) Enterobacteriaceae üyelerinin % 1 aminoasit içeren beyin kalp infüzyon sıvısında başlıca PUT, CAD, TYR ve HIS ürettiğini belirtmişlerdir. Tavuk derisinden izole edilen 7 farklı *Aeromonas* üyesinin PUT (<3.7 mg L⁻¹) ve 5 üyesinin CAD ürettiği (73.8 mg L⁻¹) gözlenmiştir (Buňková ve ark. 2010). *Staphylococcus* üyelerinin yüksek miktarda PUT ve PHEN (>100 mg L⁻¹) oluşturduğu gözlenmiştir (Seitter ve ark., 2011). Mevcut çalışmada, bakteriler tarafından PUT üretimi 0.78 mg L⁻¹ (patojen *E. faecalis*) ve 146.98 mg L⁻¹ (*S. liquefaciens*) aralığında ve CAD üretimi ise 1.51 mg L⁻¹ (*P. damsela*) ve 65.24 mg L⁻¹ (*S. Paratyphi A*) aralığında olmuştur.

Çizelge 4. TDB'de gıda kaynaklı patojenler tarafından üretilen AMN, TMA ve BAs (mg L⁻¹)

	Gruplar	Gıda Kaynaklı Patojenik Bakteri			
		<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. Paratyphi A</i>	<i>E. faecalis</i>
AMN	Kontrol	288.79±8.89 ^d	709.46±58.67 ^d	209.80±9.93 ^c	140.16±1.65 ^d
	Tween 80	69.44±1.99 ^c	564.25±19.59 ^c	246.39±15.26 ^d	78.12±5.13 ^c
	BEO	25.29±1.13 ^b	277.43±7.86 ^b	181.76±7.57 ^a	25.71±1.92 ^a
	BNE	18.60±1.00 ^a	181.35±6.42 ^a	200.20±7.18 ^b	40.74±1.17 ^b
TMA	Kontrol	51.81±1.27 ^d	43.65±0.92 ^d	20.84±0.05 ^d	56.78±2.16 ^b
	Tween 80	40.00±0.00 ^c	15.68±0.04 ^b	10.09±0.01 ^b	42.45±2.34 ^{ab}
	BEO	32.88±1.24 ^b	21.97±1.37 ^c	11.57±0.69 ^c	37.80±2.44 ^a
	BNE	22.29±0.02 ^a	8.75±0.36 ^a	7.45±0.52 ^a	38.48±2.39 ^a
PUT	Kontrol	93.24±1.14 ^d	90.46±1.87 ^c	32.67±2.56 ^d	19.85±0.16 ^d
	Tween 80	47.46±0.11 ^c	37.18±1.30 ^b	26.44±1.93 ^c	10.69±0.97 ^c
	BEO	30.61±1.21 ^b	36.68±0.04 ^b	17.98±2.85 ^b	2.93±0.19 ^b
	BNE	17.80±0.54 ^a	8.68±0.37 ^a	3.67±0.04 ^a	0.78±0.01 ^a
CAD	Kontrol	24.17±7.48 ^d	20.78±1.96 ^c	65.24±0.06 ^d	8.36±0.57 ^c
	Tween 80	21.05±0.02 ^c	17.06±0.09 ^b	47.71±7.28 ^c	2.04±0.10 ^b
	BEO	14.75±0.58 ^b	17.72±0.33 ^b	12.56±0.38 ^b	1.55±0.14 ^a
	BNE	7.45±0.49 ^a	2.00±0.07 ^a	6.80±0.25 ^a	1.77±0.04 ^{ab}
SPD	Kontrol	89.05±2.14 ^c	50.36±2.76 ^d	32.44±0.07 ^c	5.23±0.04 ^c
	Tween 80	55.91±0.14 ^b	45.64±1.75 ^c	27.16±1.82 ^b	2.95±0.16 ^b
	BEO	56.12±1.66 ^b	28.44±1.94 ^b	24.21±5.07 ^a	2.34±0.00 ^a
	BNE	15.56±0.11 ^a	6.00±0.77 ^a	32.43±2.83 ^c	2.33±0.06 ^a
TRPT	Kontrol	10.44±0.04 ^c	25.76±0.88 ^d	21.13±1.10 ^d	0.16±0.01 ^b
	Tween 80	10.55±0.02 ^c	8.03±0.91 ^c	13.02±0.72 ^c	0.18±0.01 ^c
	BEO	5.67±0.15 ^b	3.30±0.51 ^a	5.62±0.12 ^b	0.13±0.00 ^{ab}
	BNE	3.55±0.01 ^a	5.91±0.26 ^b	3.87±0.02 ^a	0.03±0.00 ^a
PHEN	Kontrol	0.00±0.00 ^a	9.46±0.64 ^b	0.52±0.02 ^b	0.42±0.03 ^a
	Tween 80	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.74±0.05 ^b
	BEO	2.32±0.12 ^c	0.00±0.00 ^a	0.97±0.00 ^c	0.41±0.00 ^a
	BNE	2.03±0.03 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.70±0.00 ^b
SPN	Kontrol	87.95±0.71 ^d	45.00±3.67 ^d	16.82±0.02 ^c	11.58±0.10 ^c
	Tween 80	23.06±1.15 ^b	31.27±3.11 ^c	11.78±0.74 ^a	10.76±0.05 ^{bc}
	BEO	39.46±2.17 ^c	14.29±9.85 ^a	13.00±1.03 ^b	9.67±0.23 ^b
	BNE	12.22±0.60 ^a	21.54±0.07 ^b	12.13±1.05 ^{ab}	4.10±0.02 ^a
HIS	Kontrol	20.15±0.73 ^d	27.37±1.80 ^d	30.45±0.04 ^d	30.44±0.01 ^c
	Tween 80	12.76±0.78 ^c	20.23±0.09 ^c	21.66±0.05 ^c	27.18±0.01 ^{bc}
	BEO	3.24±0.65 ^a	6.54±0.35 ^b	15.46±0.65 ^a	25.70±1.17 ^b
	BNE	4.56±0.17 ^b	2.82±0.15 ^a	19.29±0.89 ^b	16.60±0.64 ^a
SER	Kontrol	641.14±13.07 ^d	91.48±0.40 ^d	59.48±0.16 ^d	60.22±3.02 ^c
	Tween 80	195.52±10.11 ^c	56.98±4.54 ^c	41.83±0.18 ^c	50.17±2.01 ^b
	BEO	133.28±10.25 ^b	35.37±2.17 ^b	22.70±0.23 ^b	37.90±2.88 ^{ab}
	BNE	64.72±4.47 ^a	29.75±0.35 ^a	18.78±1.68 ^a	32.08±1.30 ^a
TYR	Kontrol	702.88±9.76 ^d	234.01±2.67 ^c	86.65±6.33 ^d	116.89±5.67 ^c
	Tween 80	326.14±11.79 ^c	136.30±3.85 ^b	56.97±2.63 ^c	48.62±2.45 ^b
	BEO	262.33±21.98 ^b	23.91±1.71 ^a	28.73±1.44 ^b	29.98±1.30 ^a
	BNE	143.05±4.81 ^a	20.37±0.02 ^a	26.89±3.48 ^a	35.48±2.66 ^{ab}
DOP	Kontrol	547.11±34.12 ^d	385.15±20.02 ^d	686.31±14.98 ^d	16.79±1.02 ^b
	Tween 80	322.96±11.07 ^a	249.37±10.77 ^c	293.70±12.68 ^c	11.41±0.02 ^a
	BEO	400.98±28.08 ^c	196.013±8.56 ^b	242.13±3.02 ^b	11.08±0.01 ^a
	BNE	383.97±27.73 ^b	142.45±10.06 ^a	58.14±2.63 ^a	11.61±0.62 ^a
AGM	Kontrol	235.85±11.95 ^c	224.23±0.21 ^c	256.15±7.08 ^c	30.21±1.02 ^d
	Tween 80	175.87±12.24 ^b	125.98±6.45 ^a	175.41±9.98 ^b	24.25±1.56 ^c
	BEO	123.08±8.73 ^a	150.66±4.20 ^b	92.30±6.89 ^a	15.70±4.11 ^b
	BNE	124.20±5.91 ^a	127.91±0.03 ^a	90.78±5.42 ^a	7.94±4.47 ^a

Çizelge 5. TDB'de balıkta bozulma etmeni bakteriler tarafından üretilen AMN, TMA BAs (mg L⁻¹)

	Gruplar	Balık Bozucu Bakteri					
		<i>P. damsela</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. liquefaciens</i>	<i>P. luteola</i>
AMN	Kontrol	975.10±65.67 ^d	299.34±10.02 ^c	834.68±61.51 ^d	540.56±25.75 ^b	543.64±29.55 ^d	353.56±6.69 ^d
	Tween 80	595.37±38.86 ^c	580.46±41.56 ^d	200.65±0.70 ^b	522.87±27.63 ^b	243.64±7.54 ^b	241.54±11.23 ^a
	BEO	192.36±15.44 ^a	203.46±13.06 ^a	281.95±7.83 ^c	411.77±13.19 ^a	313.77±14.30 ^c	261.59±6.49 ^b
	BNE	300.75±0.79 ^b	239.78±6.71 ^b	138.81±5.07 ^a	396.05±18.05 ^a	197.75±9.65 ^a	321.53±28.17 ^c
TMA	Kontrol	153.46±7.72 ^d	20.78±1.13 ^d	26.15±1.28 ^c	21.35±1.91 ^c	8.30±0.19 ^d	5.38±0.29 ^c
	Tween 80	67.41±3.57 ^c	18.87±0.62 ^c	17.93±1.14 ^b	16.26±1.23 ^b	5.01±0.32 ^c	3.75±0.43 ^b
	BEO	48.91±0.06 ^b	13.56±1.04 ^b	17.16±0.16 ^b	12.06±0.45 ^{ab}	2.43±0.11 ^b	2.82±0.05 ^{ab}
	BNE	15.42±0.82 ^a	6.00±0.89 ^a	13.26±0.35 ^a	10.29±0.06 ^a	1.74±0.04 ^a	2.07±0.20 ^a
PUT	Kontrol	100.08±5.78 ^d	77.76±4.14 ^c	97.50±3.43 ^d	59.10±4.82 ^c	146.98±0.42 ^d	56.61±1.43 ^d
	Tween 80	73.38±4.50 ^c	42.05±3.24 ^b	76.58±4.40 ^c	58.75±3.87 ^c	108.23±6.73 ^c	46.87±3.42 ^c
	BEO	31.16±2.99 ^a	45.17±0.71 ^b	21.20±0.28 ^b	18.59±0.20 ^b	16.20±0.88 ^b	30.23±0.92 ^b
	BNE	51.75±0.64 ^b	29.93±1.44 ^a	13.04±0.16 ^a	7.41±0.26 ^a	10.21±0.04 ^a	12.86±1.63 ^a
CAD	Kontrol	17.75±0.36 ^c	15.50±0.70 ^c	9.13±0.19 ^c	9.54±0.65 ^c	14.69±0.31 ^c	10.72±0.18 ^c
	Tween 80	4.05±0.25 ^b	14.27±1.03 ^b	3.08±0.17 ^b	8.09±0.13 ^c	9.06±0.75 ^b	9.05±0.04 ^{bc}
	BEO	2.12±0.11 ^{ab}	7.52±0.49 ^a	2.40±0.19 ^{ab}	2.88±0.16 ^a	8.63±0.53 ^b	7.28±0.69 ^b
	BNE	1.51±0.01 ^a	7.51±0.14 ^a	1.76±0.06 ^a	5.20±0.29 ^b	3.17±0.30 ^a	3.84±0.32 ^a
SPD	Kontrol	23.56±1.88 ^c	58.10±0.97 ^d	10.02±0.92 ^c	30.40±0.83 ^d	25.79±2.46 ^c	2.92±0.11 ^c
	Tween 80	22.19±1.84 ^c	47.53±0.96 ^c	9.04±0.11 ^b	23.82±2.84 ^c	14.90±1.12 ^a	2.25±0.07 ^b
	BEO	16.47±3.18 ^b	18.34±1.53 ^a	4.94±0.93 ^a	19.63±1.69 ^b	22.93±1.45 ^b	1.48±0.10 ^{ab}
	BNE	11.82±0.91 ^a	40.25±0.95 ^b	4.15±0.24 ^a	6.18±0.01 ^a	16.77±0.29 ^{ab}	1.38±0.06 ^a
TRPT	Kontrol	35.50±1.16 ^c	23.59±0.60 ^c	9.94±0.53 ^c	44.94±1.30 ^d	10.62±0.71 ^c	7.99±0.10 ^d
	Tween 80	22.14±2.03 ^{ab}	18.04±1.05 ^b	2.09±0.12 ^a	25.95±0.37 ^a	6.05±0.53 ^b	5.40±0.24 ^b
	BEO	26.33±1.84 ^b	7.46±0.12 ^a	3.09±0.15 ^{ab}	34.09±2.11 ^c	3.38±0.84 ^a	6.86±0.03 ^c
	BNE	20.19±0.71 ^a	8.26±0.25 ^a	4.12±0.25 ^b	30.39±1.30 ^b	4.09±0.61 ^a	2.44±0.00 ^a
PHEN	Kontrol	45.88±2.67 ^c	6.03±0.04 ^c	8.42±0.53 ^c	11.34±0.06 ^c	15.28±0.39 ^c	0.00±0.00 ^a
	Tween 80	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.48±0.03 ^a	9.76±0.05 ^b	13.18±1.01 ^b	0.00±0.00 ^a
	BEO	6.94±0.34 ^b	0.00±0.00 ^a	7.89±0.15 ^c	9.08±0.04 ^b	9.85±0.70 ^a	0.00±0.00 ^a
	BNE	0.59±0.01 ^a	5.72±0.28 ^b	2.38±0.07 ^b	3.36±0.51 ^a	10.69±0.56 ^a	0.00±0.00 ^a
SPN	Kontrol	184.95±5.59 ^d	131.33±3.30 ^d	93.25±2.51 ^d	66.27±2.96 ^d	113.15±1.34 ^d	91.46±1.20 ^b
	Tween 80	117.52±1.91 ^b	110.14±7.13 ^c	30.21±0.34 ^c	16.90±0.31 ^c	96.69±0.42 ^c	90.10±5.05 ^b
	BEO	151.30±8.36 ^c	87.80±2.95 ^b	10.23±0.15 ^b	10.37±0.04 ^b	35.38±1.92 ^b	85.55±4.04 ^{ab}
	BNE	64.69±0.92 ^a	32.34±1.58 ^a	5.06±0.27 ^a	4.34±0.79 ^a	20.34±1.17 ^a	83.18±5.43 ^a
HIS	Kontrol	25.45±0.64 ^d	58.76±2.33 ^c	24.17±0.47 ^c	24.08±0.45 ^c	32.58±1.63 ^c	30.35±0.01 ^d
	Tween 80	12.16±0.42 ^b	33.40±0.36 ^b	5.45±0.07 ^b	20.58±0.30 ^b	19.61±0.92 ^b	26.62±0.04 ^c
	BEO	16.23±0.18 ^c	22.22±0.20 ^a	2.86±0.01 ^a	22.30±1.63 ^{bc}	12.17±0.05 ^a	22.47±0.43 ^b
	BNE	6.39±0.46 ^a	31.64±1.81 ^b	2.29±0.02 ^a	15.66±0.48 ^a	13.39±0.50 ^a	15.31±0.93 ^a
SER	Kontrol	61.63±3.43 ^c	23.97±1.30 ^c	77.07±1.16 ^c	30.19±0.31 ^d	43.59±0.27 ^c	71.36±0.50 ^d
	Tween 80	53.58±2.18 ^{bc}	8.43±0.11 ^b	49.60±0.57 ^b	20.91±1.24 ^c	28.29±0.82 ^b	50.57±0.29 ^b
	BEO	50.52±2.40 ^b	8.29±0.38 ^b	34.51±1.27 ^a	14.40±1.06 ^b	10.06±1.49 ^a	62.72±4.44 ^c
	BNE	42.36±0.03 ^a	5.06±0.61 ^a	56.33±3.05 ^{bc}	10.13±0.20 ^a	11.92±1.08 ^a	33.56±2.28 ^a
TYR	Kontrol	281.97±11.14 ^d	242.00±12.02 ^d	211.23±3.47 ^c	126.73±0.24 ^d	151.96±2.57 ^c	49.83±0.71 ^c
	Tween 80	149.87±5.19 ^c	219.11±9.92 ^c	93.84±4.77 ^b	51.26±1.86 ^c	67.76±1.53 ^b	31.14±2.67 ^b
	BEO	56.15±4.53 ^b	159.57±7.50 ^a	48.10±1.33 ^a	22.82±0.74 ^a	60.30±1.59 ^a	29.93±0.72 ^b
	BNE	12.63±0.86 ^a	176.84±6.87 ^b	48.11±1.15 ^a	29.79±1.46 ^b	67.41±4.78 ^b	25.07±0.80 ^a
DOP	Kontrol	1187.20±18.10 ^c	567.67±34.18 ^d	66.54±4.90 ^c	3889.45±148.10 ^c	473.33±4.70 ^d	1946.20±156.83 ^d
	Tween 80	718.61±64.26 ^b	107.27±10.28 ^a	62.78±5.50 ^{bc}	5391.01±205.14 ^d	383.32±12.82 ^c	1123.72±104.08 ^c
	BEO	822.80±35.50 ^{bc}	210.06±12.56 ^b	58.45±4.16 ^b	2436.30±98.10 ^b	222.62±3.70 ^b	559.67±146.45 ^b
	BNE	111.60±2.73 ^a	260.80±17.71 ^c	39.58±1.63 ^a	1659.14±39.21 ^a	36.22±0.32 ^a	211.34±22.48 ^a
AGM	Kontrol	608.98±20.30 ^c	248.43±12.16 ^c	274.81±1.52 ^d	147.83±5.59 ^c	197.65±8.15 ^d	210.30±1.34 ^c
	Tween 80	144.29±2.02 ^b	149.61±12.71 ^b	258.12±18.39 ^c	135.15±1.05 ^b	179.75±2.10 ^c	126.28±7.13 ^a
	BEO	73.04±4.97 ^a	117.41±8.72 ^a	28.58±0.88 ^a	197.53±7.34 ^d	73.85±0.85 ^b	164.34±5.38 ^b
	BNE	94.32±5.45 ^{ab}	155.05±1.82 ^b	103.73±4.19 ^b	119.81±0.04 ^a	69.09±5.17 ^a	164.35±10.86 ^b

BEO: Biberiye esansiyel yağı, BNE: Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyon.

*Ortalama değer, ± standart sapma, n=3. Aynı satır üzerindeki farklı harfler (a-d) istatistikî farkı göstermektedir.

Spermidin (SPD) üretiminde de benzer şekilde patojen bakterilerin besi ortamında kullanılan tüm grupların amin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. Spermidin (SPD) üretiminde suşlar arası dalgalanma gözlenirken *S. Paratyphi A*'da BNE, SPD üretimini Tween 80 ve BEO'ya göre teşvik etmiş ve kontrol ile aralarında benzer üretim değerleri (32.43 - 32.44 mg L⁻¹) gözlenmiştir. Spermin (SPN) üretiminde patojen bakterilerin besi ortamında kullanılan tüm grupların amin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. En yüksek üretimler kontrol gruplarında gözlenirken muamele grupları arasında dalgalanmalar gözlenmiştir. Patojen suşlarda çok fazla SPN üretimi gözlenmezken bozucu grupta daha fazla üretim söz konusu olmuştur. SPN üretiminde en fazla inhibisyon yine bozucu suşlarda ve *V. vulnificus* ile *P. mirabilis*'te gözlenmiştir. Balık bozucu grupta da muamele grupları arasında SPD üretimi açısından farklılıklar gözlenmiştir. Patojen suşlarda en düşük ve en yüksek SPN üretimi 4.10 - 45.00 mg L⁻¹ ile *E. faecalis* (BNE) ve *K. pneumoniae* (kontrol)'de gözlenirken bozucu suşlarda en düşük ve en yüksek SPN üretimi 4.34 - 184.95 mg L⁻¹ ile *P. mirabilis* (BNE) ve *P. damsela* (kontrol)'de gözlenmiştir. *S. Paratyphi A* suşundan en düşük SPN üretimi Tween 80 grubunda gözlenmiştir. *S. aureus*'ta ise BEO, Tween 80'den daha az inhibitör etki yaratmıştır. Bu sonuçlardan da görüldüğü üzere biyojen amin üretiminde muamele gruplarının her zaman inhibe edici etkide olmadığı ve bunun nedeninin de bakteriyel suş, kullanılan besi ortamı gibi faktörlerden etkilendiği sonucuna varılmaktadır.

Triptamin (TRPT) üretimine bakıldığında gıda kaynaklı patojenik bakteriler tarafından çok fazla üretim gözlenmezken bozulma etmeni bakterilerin daha fazla üretim yaptığı görülmekte ve en düşük ve en yüksek üretimleri 2.09 - 44.94 mg L⁻¹ aralığında olmuştur ve sırasıyla *V. vulnificus* (Tween 80) ile *P. mirabilis* (kontrol) suşlarında gözlenmiştir. Patojen organizmalarda ise bu değerler 0.03 mg L⁻¹ (BNE grubu *E. faecalis*) - 25.76 mg L⁻¹ (kontrol grubu *K. pneumoniae*) aralığında olmuştur. 2-feniletülin (PHEN) üretimi açısından sonuçlar incelendiğinde, patojen suşların oldukça az üretim yaptıklarını, bozucu bakterilerin ise daha fazla ürettikleri görülmektedir. *S. aureus*'ta BEO ve BNE grupları PHEN üretimini teşvik ederken kontrol ve Tween 80 gruplarında hiçbir üretim gözlenmemiştir. *K. pneumoniae*'de ise muamele gruplarının tamamı PHEN üretimini baskılamıştır. *S. paratyphi A*'da ise BEO grubu (0.97 mg L⁻¹), bozucu *E. faecalis*'te ise Tween 80 grubu (0.74 mg L⁻¹) en yüksek PHEN üretimi ile sonuçlanmıştır. Tüm suşlar arasında sadece *P. luteola*'da kontrol dahil hiçbir grupta PHEN üretimi gözlenmemiştir. Tüm suşlar arasında en fazla inhibisyon *P. damsela*'de (77 kat) gözlenmiştir.

Bakteriler tarafından üretilen serotonin (SER) ve dopamin (DOP) sırasıyla 5.06 ve 11.08 mg L⁻¹'nin üzerinde olup, *S. aureus* (641.14 mg L⁻¹) ve *P. mirabilis* (5391.01 mg L⁻¹) en yüksek SER ve DOP üreten bakteriler olmuştur. Muamele grupları test edilen bakteriler tarafından SER ve DOP üretimini engelleyici etkiye sahip olmuştur. En yüksek inhibitör etki ise SER için *S. aureus* suşunda DOP için *S. Paratyphi A* suşunda gözlenmiştir. *V. vulnificus* suşunda kontrolden sonra en az inhibitör etki gösteren grup BNE olması bu suşta SER üretimi açısından stimüle edici eki yaratmıştır. DOP üretiminde patojen *E. faecalis*'te muamele grupları kontrole göre inhibitör etkisi yaparken muamele grupları kendi aralarında istatistiksel olarak farklı olamayan sonuçlar göstermişlerdir. DOP üretiminde genel olarak yüksek üretimler bozucu grupta daha fazla olmasına karşın patojen suşlarda da gözlenmiştir. Patojen suşlardan *E. faecalis* en düşük DOP üretirken, bozucu grupta *V. vulnificus* en düşük DOP üreten suş olmuştur. TDB içerisinde agmatin (AGM) üretimi de DOP üretimine benzer sonuçlar göstermiştir. AGM incelendiğinde patojen suşların tamamında muamele gruplarının önemli bir inhibe edici etkisi gözlenmiştir.

Tüm muamele gruplarının kontrole kıyasen TMA üretimini baskıladığı, en fazla inhibisyonun ise *P. damsela* suşunda olduğu tespit edilmiştir. TDB içerisinde bozucu bakteriler arasında en düşük ve en yüksek TMA üreten bakteri sırasıyla BNE grubunda 1.74 mg L⁻¹ olarak *S. liquefaciens* ve hiçbir katkı olmayan kontrol grubunda 153.46 mg L⁻¹ oranıyla *P. damsela* olmuştur. Yine aynı dekarboksilaz sıvısı içerisinde patojen bakteriler arasında ise en düşük ve en yüksek TMA üreten bakteri ise sırasıyla BNE grubunda 7.45 mg L⁻¹ üretim ile *S. Paratyphi A* ve kontrol grubunda 56.78 mg L⁻¹ oranında *E. faecalis* olmuştur.

Gıdalarda oldukça önemli olan biyojen aminlerden biri histamindir (HIS). Özellikle yağlı balıklarda depolama ile birlikte yüksek konsantrasyonu toksik etki yaratmaktadır. Kontrol gruplarında HIS üretimi 20.15 mg L⁻¹ (*S. aureus*) ve 58.76 mg L⁻¹ (bozucu *E. faecalis*) arasında değişiklik göstermiştir. Biberiyenin tüm formları ve Tween 80, tüm kullanılan gıda kaynaklı patojenlerin ve bozucu bakterilerin HIS üretimini baskılamıştır. Bu da biberiyenin özellikle kolay bozulabilen balık gibi et ürünlerinde enfeksiyona yol açabilecek potansiyeli olan patojenlerin metabolit üretimini baskıladığı görülmektedir. Genel olarak HIS üretimi patojen grupta 2.82-30.45 mg L⁻¹ aralığında, bozucu grupta ise

2.29 - 58.76 mg L⁻¹ aralığında olmuştur. Patojen ve bozucu suşlar hemen hemen benzer oranlarda HIS üretmişlerdir. *S. aureus*'ta ve *S. Paratyphi A*'da biberiye esansiyel yağının (BEO) nanoemülsiyon formundan (BNE) daha çok inhibitör etkide olduğu gözlenmiştir. Benzer durum *E. faecalis* ve *S. liquefaciens* bozucu suşlarında da görülmüştür. Bu durumdan farklı olarak *P. damsela* ve *P. mirabilis* suşlarında ise Tween 80 BEO'dan HIS üretiminde daha inhibe edici etkili olmuştur. Önemli oranda inhibisyon ise *V. vulnificus* suşunda (yaklaşık 10 kat) gözlenmiştir. Bu durum tirozin destekli besi ortamında bile biberiye esansiyel yağı ve nanoemülsiyon formunun bozucu mikroorganizmaların amin üretimini inhibe ettiğini göstermektedir. López-Sabater ve ark. (1996) kültür ortamında *K. pneumoniae*'nin 216 ppm histamin ürettiğini belirtmiştir. Chang ve ark. (2008) *S. aureus* izolatlarının kültür ortamında 12.7 ve 33.0 mg kg⁻¹ arasında HIS ürettiğini rapor etmiştir. *K. pneumoniae*'nin histidinden yüksek oranda HIS ürettiği (>3400 mg L⁻¹), *E. faecalis*'in ise zayıf HIS üreticisi (<10 mg L⁻¹) olduğu bulunmuştur (Özogul ve Özogul, 2007). Bu çalışmada *K. pneumoniae* ve patojen *E. faecalis* sırasıyla 2.82 - 27.37 mg L⁻¹ ve 16.60 - 30.44 mg L⁻¹ HIS üretmiştir.

TDB içinde bozulma etmeni bakteriler arasında tiramin (TYR) açısından kayda değer miktarlarda üretim gözlenmiştir. Muamele grupları tüm patojen organizmaların TYR üretimini azaltmasına rağmen en yüksek inhibisyon *K. pneumoniae*'de (2-11 kat) gözlenmiştir ve patojen bakteriler arasında *K. pneumoniae* tarafından üretilen TYR miktarını kullanılan BEO ve BNE grupları önemli ölçüde engellemiştir. *S. Paratyphi A* ve *E. faecalis* suşları kayda değer miktarda TYR üretmesine rağmen en fazla üretim *S. aureus*'ta (143.05 - 702.88 mg L⁻¹) gözlenmiştir. Bozulma etmeni bakteriler arasında TYR açısından kayda değer miktarlarda üretim *P. damsela* (12.63 - 281.97 mg L⁻¹) ve *E. faecalis* (159.57 - 242.00 mg L⁻¹) suşlarında gözlenmiştir. Fakat patojen bakteriler arasında *S. aureus* tarafından üretilen TYR miktarını kullanılan BEO ve BNE grupları önemli ölçüde engellemiştir. BEO ve BNE grupları genel olarak TYR üretimini kontrol ve Tween 80 gruplarından daha fazla inhibe ederken, *V. vulnificus*'ta BEO ve BNE grupları benzer oranda etki etmişlerdir ve bu minör farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (p<0.05). KučeroVá ve ark. (2009) süt ve peynirden izole edilen Enterococcus üyelerinin çoğunun tirozin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir. Hsitidin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojenler tarafından TYR birikimi 1.1 - 13.4 mg L⁻¹ arasında olmuştur (Gokdogan ve ark., 2012). Bu çalışmada, kontrol gruplarında TYR üretimi 49.83 mg L⁻¹ (*P. luteola*) ve 702.88 mg L⁻¹ (*S. aureus*) arasında olmuştur. Bu kadar yüksek TYR üretimi, besi ortamının tirozin destekli olmasından kaynaklanmaktadır. Genel olarak bakıldığında kullanılan besi ortamının TDB olduğu düşünüldüğünde TYR üretimine oldukça müsait koşullar olması BEO ve BNE'nin bu organizmalar üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Literatür çalışmalarına bakıldığında zaman zaman bu konuda ülkemizde ve dünyada sınırlı sayıda çalışma bulunduğu görülmektedir. Bu çalışmada biberiye esansiyel yağı ve bu yağ kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların gıda kaynaklı patojen ve balıkta bozucu bakterilerin ürettiği biyojen aminlere karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve oldukça tatmin edici sonuçlar bulunmuştur. Sistem içindeki esansiyel yağ formu dikkate alındığında, bunun antibakteriyel özellikleri nanoemülsiyon sistemine dahil edilerek geliştirilmiştir. Nanoemülsiyon, test edilen çoğu bakteri türlerine karşı antimikrobiyal özellikler göstermiştir, ancak bu etkinin bakteriyostatik veya bakterisidal etki olduğu gözlenmemiştir. Nanoemülsiyon hazırlama yöntemi ve formülasyonundaki gelişme, antibakteriyel özelliklerini daha da iyileştirmek için daha fazla araştırılması önerilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından A-2012 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynakça

Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., & Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35(1), 177e183.

- Al-zoreky, N. S., & Al-Taher, A. Y. (2015). Antibacterial activity of spathe from *Phoenix dactylifera* L. against some foodborne pathogens. *Industrial Crops and Products*, 65, 241-246.
- Buňková, L., Buňka, F., Klčovská, P., Mrkvička, V., Doležalová, M., & Kráčmar, S. (2010). Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin. *Food Chemistry*, 121(1), 203-206.
- Chang, S. C., Kung, H. F., Chen, H. C., Lin, C. S., & Tsai, Y. H. (2008). Determination of histamine and bacterial isolation in swordfish fillets (*Xiphias gladius*) implicated in a food borne poisoning. *Food Control*, 19(1), 16-21.
- Chang, Y., McLandsborough, L., & McClements, D. J. (2012). Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: Influence of ripening inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48), 12056-12063.
- Chu, Y., Gao, C., Liu, X., Zhang, N., Xu, T., Feng, X., ... & Tang, X. (2020). Improvement of storage quality of strawberries by pullulan coatings incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsion. *LWT*, 122, 109054.
- Donsì, F., Cuomo, A., Marchese, E., & Ferrari, G. (2014). Infusion of essential oils for food stabilization: Unraveling the role of nanoemulsion-based delivery systems on mass transfer and antimicrobial activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 212-220.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K., & Vural, N. (2001). Biogenic amines produced by Enterobacteriaceae isolated from meat products. *Meat Science*, 58(2), 163-166.
- Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014). Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against, microbial spoilage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 392-397.
- Gokdogan, S., Özogul, Y., Kuley, E., Özogul, F., Kacar, C., & Ucar, Y. (2012). The influences of natural zeolite (cliptinolite) on ammonia and biogenic amine formation by foodborne pathogen. *Journal of Food Science*, 77(8), M452-M457.
- Korkmaz, K., Tokur, B., & Uçar, Y. (2021). Enzimatik hidroliz yöntemi kullanılarak balık işleme atıklarından balık protein hidrolizatı üretimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31(2), 502-513.
- KučeroVá, K., SVobodoVá, H., Tůma, Š., Ondráčková, I., & Plockova, M. (2009). Production of biogenic amines by Enterococci. *Czech Journal of Food Sciences*, 2, 50-55.
- Kuley, E., Balıkcı, E., Özoğul, İ., Gökdogan, S., & Özoğul, F. (2012). Stimulation of cadaverine production by foodborne pathogens in the presence of *Lactobacillus*, *Lactococcus*, and *Streptococcus* spp. *Journal of Food Science*, 77, 650- 658.
- López-Sabater, E. I., Rodríguez-Jerez, J., Hernández-Herrero, M., & Mora-Ventura, M. T. (1996). Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28(3), 411-418.
- Majeed, H., Antoniou, J., Shoemaker, C. F., & Fang, Z. (2015). Action mechanism of small and large molecule surfactant-based clove oil nanoemulsions against foodborne pathogens and real-time detection of their subpopulations. *Archives of Microbiology*, 197(1), 35-45.
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285-330.
- Niven, Jr, C. F., Jeffrey, M. B., & Corlett Jr, D. A. (1981). Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1), 321-322.
- Nowak, A., Kalemba, D., Krala, L., Piotrowska, M., & Czyzowska, A. (2012). The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32, 212-6.
- Özoğul, F. (2004). Production of biogenic amines by *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hafnia alvei* using a rapid HPLC method. *European Food Research and Technology*, 219, 465–469.
- Özogul, F., & Özogul, Y. (2007). The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial cultures. *European Food Research Technology*, 225, 385–394.

- Özogul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 422-430.
- Özogul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Köşker, A. R., Öz, M., & Ozogul, F. (2017). Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT*, 75, 677-684.
- Özogul, Y., Boğa, E. K., Akyol, I., Durmus, M., Ucar, Y., Regenstein, J. M., & Köşker, A. R. (2020). Antimicrobial activity of thyme essential oil nanoemulsions on spoilage bacteria of fish and foodborne pathogens. *Food Bioscience*, 36, 100635.
- Pereira, V., Dias, C., Vasconcelos, M., Rosa, E., & Saavedra, M. (2014). Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*). *Industrial Crops and Products*, 52, 1-7.
- Redmond, J. W., & Tseng, A. (1979). High-pressure liquid chromatographic determination of putrescine, cadaverine, spermidine and spermine. *Journal of Chromatography A*, 170(2), 479-481.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2015). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43, 547-556.
- Seitter, M., Geng, B., & Hertel, C. (2011). Binding to extracellular matrix proteins and formation of biogenic amines by food-associated coagulase-negative Staphylococci. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 483-7.
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F. J., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Design and development of oral oil in water ramipril nanoemulsion formulation: *in vitro* and *in vivo* assessment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(1), 28-44.
- Telli, R., Gök, V., & Çağlar, A. (2006). Aromatik uçucu yağ bileşenlerinin gıdalardaki antibakteriyel etkileri. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs, Bolu 939.
- ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H. M. L. J., & In't Veld, J. H. (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11(1), 73-84.
- Uçar, Y. (2020a). Su ürünlerinde nisin uygulamaları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 639-651.
- Uçar, Y. (2020b). Antioxidant effect of nanoemulsions based on citrus peel essential oils: Prevention of lipid oxidation in trout. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(5), 1900405.
- Yazgan, H., Ozogul, Y., & Kuley, E. (2019). Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on foodborne pathogens and fish spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 306, 108266.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

<https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd>



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Harmful and Beneficial Insect Species and Their Distributions in Wheat Areas in Van Province

Mehmet Salih ÖZGÖKÇE^{*1}, Hilmi KARA², Furkan Harun BAŞI³, Esra KINA⁴

^{1,2,3,4} Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 65090, Van, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-6777-9149>, ²<https://orcid.org/0000-0003-0580-0464>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4764-9742>,
⁴<https://orcid.org/0000-0001-6728-3453>

*Corresponding author e-mail: msozgokece@yyu.edu.tr

Article Info

Received: 29.01.2021

Accepted: 15.03.2022

Online Published: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.865341

Keywords

Distributions of wheat pests,
Fauna,
Van,
Wheat,
Wheat pests and their natural
enemies

Abstract: Wheat is one of the most important crops globally in cultivation and production. Insects, which are among the factors that cause quality and quantity losses in wheat production, are among the pest groups that should be monitored and kept under control. This study was carried out in Van province and its districts (Bahçesaray, Başkale, Çaldıran, Çatak, Edremit, Erciş, Gevaş, Gürpınar, Muradiye, Özalp, Saray and Tusba) in May-August 2017 and insect species found in wheat fields were determined. The samplings of harmful and beneficial species were carried out using standard sweep nets and by hand collection. At the end of the study, 66 species belonging to 7 orders and 39 families were found in 165 different localities. Distributions of the species were recorded as 26 species belonging to 12 families in Coleoptera, 19 species belonging to 10 families in Hemiptera, 9 species belonging to 8 families in Diptera, 6 species belonging to 5 families in Hymenoptera, 2 species belonging to 2 family in Orthoptera, 2 species belonging to 1 family in Neuroptera, and 1 species in Thysanoptera. With this study, for the first time, comprehensive information was obtained about the pest species found in the wheat fields in and around Van, their distributions, densities, and the presence of their natural enemies in the region.

To Cite: Özgökçe, M S, Kara, H, Baş, F H, Kına, E, 2022. Harmful and Beneficial Insect Species and Their Distributions in Wheat Areas in Van Province. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 213-222. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.865341>

Van İli Buğday Ekiliş Alanlarında Bulunan Zararlı ve Yararlı Böcek Türleri ve Yayılışları

Makale Bilgileri

Geliş: 29.01.2021

Kabul: 15.03.2022

Online Yayınlanma: 15.03.2022

DOI:10.29133/yyutbd.865341

Anahtar Kelimeler

Buğday zararlılarının yayılış alanları,
Fauna,
Van,
Buğday,
Buğday zararlıları ve yararlıları

Öz: Buğday, ekiliş alanı ve üretimi bakımından tüm dünyada ilk sırada yer alan önemli bir ürünlerden biridir. Buğday üretiminde kalite ve miktar kayıplarına sebep olan etmenler arasında bulunan böcekler takip edilmesi ve kontrol altında tutulması gereken zararlı gruplarından. Bu çalışma Van ili ve ilçelerinde (Bahçesaray, Başkale, Çaldıran, Çatak, Edremit, Erciş, Gevaş, Gürpınar, Muradiye, Özalp, Saray ve Tusba) Mayıs-Ağustos 2017 tarihlerinde gerçekleştirilmiş ve buğday tarlalarında bulunan böcek türleri saptanmıştır. Zararlı ve faydalı türlerin örneklenmesi, standart süpürme ağılları kullanılarak ve elle toplanarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda 165 ayrı lokasyonda 7 takım ve 39 familyaya bağlı 66 tür bulunmuştur. Türlerin dağılımları Coleoptera takımında 12 familyaya bağlı 26 tür, Hemiptera takımında 10 familyaya bağlı 19 tür, Diptera takımında 8 familyaya bağlı 9 tür, Hymenoptera takımında 5

familyaya bağlı 6 tür, Orthoptera takımında 2 familyaya bağlı 2 tür, Neuroptera takımında 1 familyaya bağlı 2 tür ve Thysanoptera takımına bağlı 1 tür olarak kaydedilmiştir. Bu çalışma ile Van ve çevresinde buğday alanlarında bulunan zararlı türler, yayılış alanları, yoğunlukları ve bunların doğal düşmanlarının bölgedeki varlığı hakkında ilk kez kapsamlı bilgiler elde edilmiştir.

1. Giriş

Kültür bitkileri arasında geniş adaptasyon yeteneğine sahip olan ve ekiliş alanı ve üretimi bakımından dünyada ve ülkemizde ilk sırada yer alan buğday, yaklaşık 50 ülkenin temel besini olan çok önemli bir üründür (Sayan, 2010). Bitkisel besinlerden sağlanan toplam kalori içerisinde buğdayın dünya nüfusuna yaptığı katkı yaklaşık % 20 iken bu oran ülkemizde yaklaşık % 53 olarak belirtilmektedir (Sayan, 2010).

Buğday, üretim alanlarının çok geniş yer kaplaması ve çoğunlukla hektarlarca alanda tek tip ürün şeklinde üretilmesinden dolayı hastalık ve zararlılar için oldukça cazip ve bol miktarda kaynak sağlamaktadır. Dünyada hastalık, zararlı ve yabancı otların buğdayda meydana getirdikleri ürün kaybı yaklaşık % 35 dolayındadır ve hasat sonrasında böcekler, kemirgenler, kuşlar ve mikroorganizmaların neden olduğu zarar oranı ise yaklaşık % 10-20'dir [Pimmental (1984)'a atfen (Sayan, 2010)]. Buğday bitkisinde birçok zararlı böcek türü beslenir ancak bunlar içinden yalnızca birkaç tür büyük öneme sahiptir ve geniş coğrafi alanlarda zararlılara yol açarlar (Prescot ve ark., 1986; Hatchett ve ark., 1987). Diğer birçok tür ara sıra zararlı olup çok yaygın değil ve zarar durumları da çok iyi araştırılmamıştır (Prescot ve ark., 1986).

Van ili toplam buğday ekiliş alanı, 2015 yılı TÜİK verilerine göre 804 943 dekar ile ilin toplam tahıl ve diğer bitkisel üretim alanlarının % 25'ini kaplarken, 2019 yılı verilerine göre bu değerler sırasıyla 626 159 dekar ile % 21.6'ya gerilemiştir (Anonim, 2021). Toplam tarım alanları içinde aynı yıl nadasa bırakılan alanlar da ise bunun aksine artış görülmüş, nadasa bırakılan alanların oranı 2015'te % 32.2 iken 2019'da % 34.8 oranında kaydedilmiştir (Anonim, 2021). Bu oranlara göre her yıl doğrudan ekilen ve nadasa bırakılan alanlar ile birlikte, ilin tarım alanlarının yarısından fazlası buğday ve diğer tahıl ürünlerine ayrılmaktadır. Ancak Van ilinde buğday alanlarında yapılan üretimden elde edilen verim 2020 yılında 167 kg da⁻¹ iken 292 kg/da ile Türkiye ortalaması ve 191 kg/da ile de bölge ortalamasının altındadır (Anonim, 2021). Üretime ayrılan alanların kademeli olarak azalması ülke tarım politikaları veya başka nedenlere dayandırılabilir, ancak verimin düşük olması iklim, toprak, hastalık ve zararlılar gibi çeşitli sebeplerden kaynaklanıyor olabilir. Van ve çevresinde buğday ekiliş alanlarında bulunan zararlı türlerin varlığı, yaygınlığı ve önemli zararlı türlerin yoğunluğuna ilişkin daha önce yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan literatür araştırmasına göre Türkiye'de buğday zararlılarına ilişkin faunistik araştırma sayısı çok azdır. Çalışmaların önemli bir kısmı süne ve yumurta ve ergin parazitoidlerine, diğerleri ekin sap arıları, hububat hortumlu böceği, ekin koşnili, ekin güvesi, thripsler, nematod ve yaprakbiti faunası tespitine ilişkin olup buğday ekosistemlerinde genel envanter bilgi çok lokal çalışmalar dışında bilinmemektedir (Zwölfer, 1942; Alkan, 1948; Lodos, 1961; Yüksel, 1968; Duran, 1971; Karman ve ark., 1971; Tayakası, 1971; Dörtbudak, 1974; Altınayar, 1975; Koyuncu, 1975; Duran ve ark., 1979; Kavut ve Kaya, 1979; Lodos, 1981; Lodos ve Önder, 1983; Lodos ve Kavut, 1991; Elmalı, 1993; Anonim, 1995; Bulu, 1995; Özder ve Toros, 1999; Koçak ve Kılınçer, 2002; İslamoğlu ve Kornoşor, 2003; Shanower ve Hoelmer 2004; Özberk ve ark., 2005; Korkmaz ve ark., 2010; Sayan, 2010; İmren ve ark., 2014; Tayat ve Özder, 2016).

Ele alınan bu çalışmada Van ve çevresinde toplam 13 ilçede buğday ekilen alanlara düzenli surveyler yapılarak zararlı türler, avcı ve parazitoidleri, ve yoğunlukları tespit edilmiştir. Bölgede son yıllarda buğday veriminde görülen azalmaların sebepleri arasında olabilecek olası zararlı türler, yayılışları ve yoğunluklarının saptanması amaçlanan bu çalışmada, bölgede buğday ekosisteminde bulunan türlerin tespitine ilişkin daha önce kapsamlı bir çalışmaya rastlanmadığı için buğday yetiştirilen alanlarda bulunan türlerin envanteri de ortaya çıkarılacaktır. Çalışmada ayrıca, farklı karakterde ekosistemlere sahip örnekleme bölgeleri arasında buğday agro-ekosistemlerinin tür çeşitliliği, benzerlik ve farklılıklarının da ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma Van iline bağlı Bahçesaray, Başkale, Çaldıran, Çatak, Edremit, Erciş, Gevaş, Gürpınar, Muradiye, Özalp, Saray ve Tuşba ilçelerinde, 2017 yılı Mayıs-Ağustos aylarında yürütülmüştür. Örnekleme alanlarına bitkinin sapa kalktığı 15-20 cm'lik dönemi, süt olum dönemi ve başaklanma sonrası - hasat dönemine yakın zamana kadar gidilerek örnekleme tamamlanmıştır.

Zararlı ve yararlı türlerin örneklemeinde 35 cm çaplı, ahşap saplı, tül ve dayanıklı kumaş torbaya sahip standart atraplar kullanılmış ve bazı böcekler de elle toplanmıştır. Örnekleme için rasgele tarlalar seçilmiş ve her bir tarlada 200 atraplama yapılmış, daha büyük tarlalarda bu sayıya bir misli sayıda daha atraplama ilave edilmiştir. Ayrıca bitkinin tüm toprak üstü kısmı gözle kontrol edilerek rastlanan daha küçük böcekler fırça veya bitki kısmı ile birlikte alınarak içinde % 70 ve 96'lık alkol bulunan ephendorf ve falkon tüplerine aktarılmıştır. Surveylerde her bir lokasyona ait bilgiler GPS yardımıyla kaydedilmiş ve numaralandırılmıştır (Şekil 1).

Toplanan örnekler toplandığı alanın uzaklığına bağlı olarak aynı gün ya da hemen ertesi gün iğnelenerek daha sonra teşhis edilmek üzere laboratuvarında koleksiyon dolaplarına alınmıştır. Tür tanıları takım ve familya taksonlarına göre yapılarak ilk tasnifler tamamlanmıştır. Tür teşhisleri, yurt içi ve yurt dışındaki konu uzmanlarından destek alınarak veya daha önceden başka araştırmalar için toplanan ve konu uzmanları tarafından teşhis edilmiş bölümümüzde mevcut teşhisli örneklerden yararlanılarak mümkün olduğunca alt taksonlara kadar yapılmıştır. İlçelere göre buğday alanlarının sahip oldukları türlerin genel denge durumları ve çeşitlilikleri Shannon-Wiener indeksine göre değerlendirilmiştir (Pielou, 1966b; Whittaker, 1972; Ludwing, 1988; Heip. ve ark.,1998; Spellerberg ve Fedor, 2003;). Bu indekse göre çeşitlilik;

$$H' = \sum_{i=1}^s (p_i)(\ln p_i) \quad (1)$$

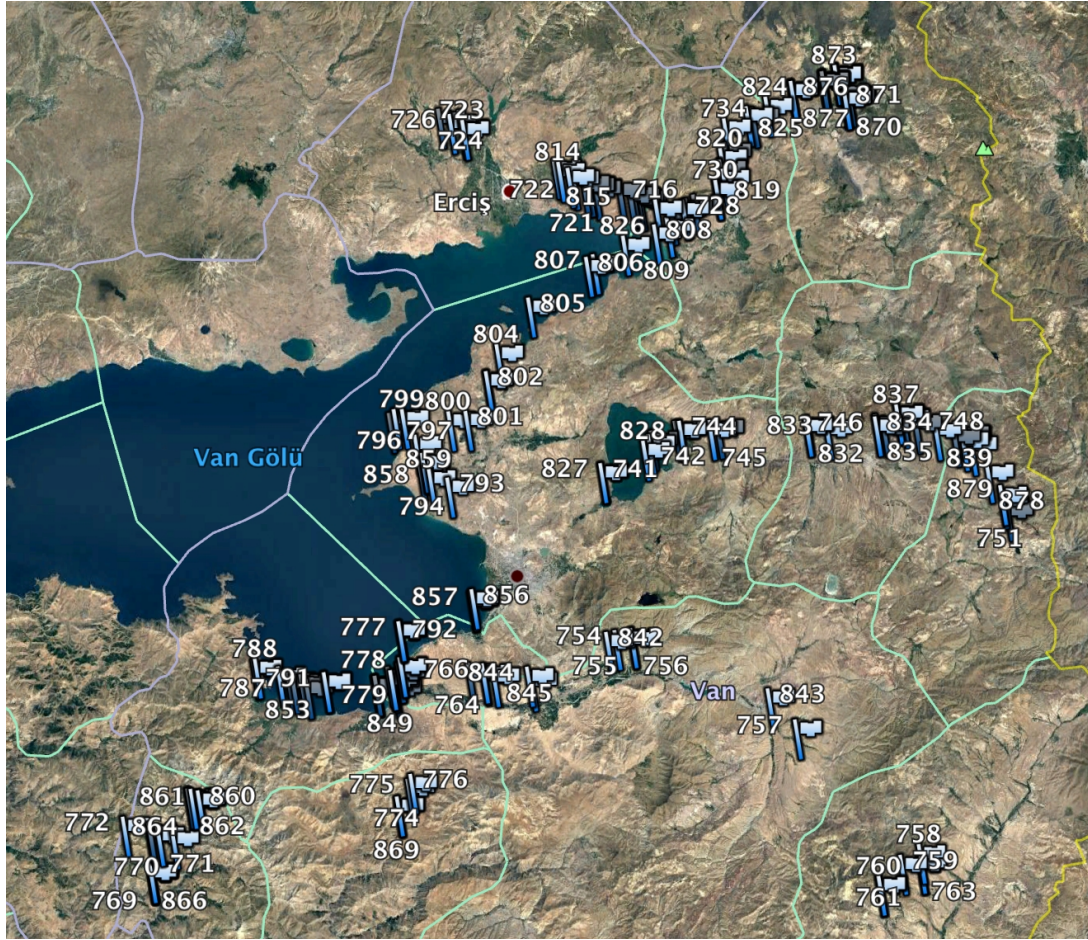
H' = tür çeşitliliğinin Shannon-Wiener indeksi, s = habitatteki tür sayısı, $p = i$ 'nci türün oranı. Benzerlik (Pielou, 1966a);

$$Evenness = \frac{H'}{\ln(S)} \quad (2)$$

$Evenness$ = habitatların benzerlik indeksi, H' = Shannon-Wiener indeksi S = toplam tür sayısı, formüllerine göre belirlenmiştir.

3. Bulgular

Çalışma Van ilinde toplam 165 lokasyonda tamamlanmış ve lokasyonlar GPS ile alınan koordinatlarına göre Şekil 1'de görülen harita üstünde gösterilmiştir.



Şekil 1. Van ili ve ilçelerinde buğday alanlarında örnek alınan yerlerin konumları ve etiket numaraları.

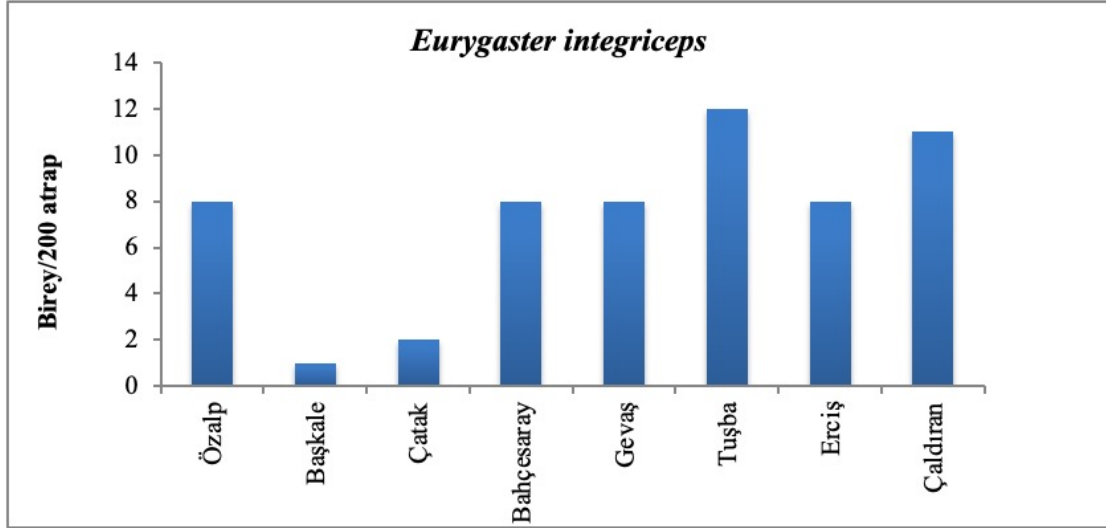
Örneklemeler Van ili merkez ve bağlı ilçelerinin tamamında yapılmış ve tasnif edilerek tanısı tamamlanan veya belli bir taksona kadar teşhis edilen türlerin toplam listesi, ait oldukları taksonomik gruplara göre düzenlenmiş ve Çizelge 1’de verilmiştir. Buna göre çalışma alanlarında toplam olarak 7 takım ve 39 familyaya bağlı 66 tür tespit edilmiştir. Türlerin taksonlara göre dağılımı sırasıyla, Coleoptera takımında 12 familyaya bağlı 26 tür, Hemiptera takımında 10 familyaya bağlı 19 tür, Diptera takımında 8 familyaya bağlı 9 tür, Hymenoptera takımında 5 familyaya bağlı 6 tür, Orthoptera takımında 2 familyaya bağlı 2 tür, Neuroptera takımında 1 familyaya bağlı 2 tür ve Thysanoptera takımına bağlı 1 tür olarak tespit edilmiştir.

Buğday alanlarında dünyanın birçok yerinde ve ülkemizde ekonomik kayıplara neden olan önemli türlerden *Eurygaster integriceps* Put. Van ilinde çok az yoğunlukta olmakla birlikte 9 farklı ilçede ve 22 farklı örnekleme noktasında rastlanmıştır (Çizelge 1, Şekil 2). Bu alanlardan en yoğun olarak Merkez (12 birey/atrap) ve Çaldıran (11 birey/atrap) ilçelerinde kaydedilmiştir.

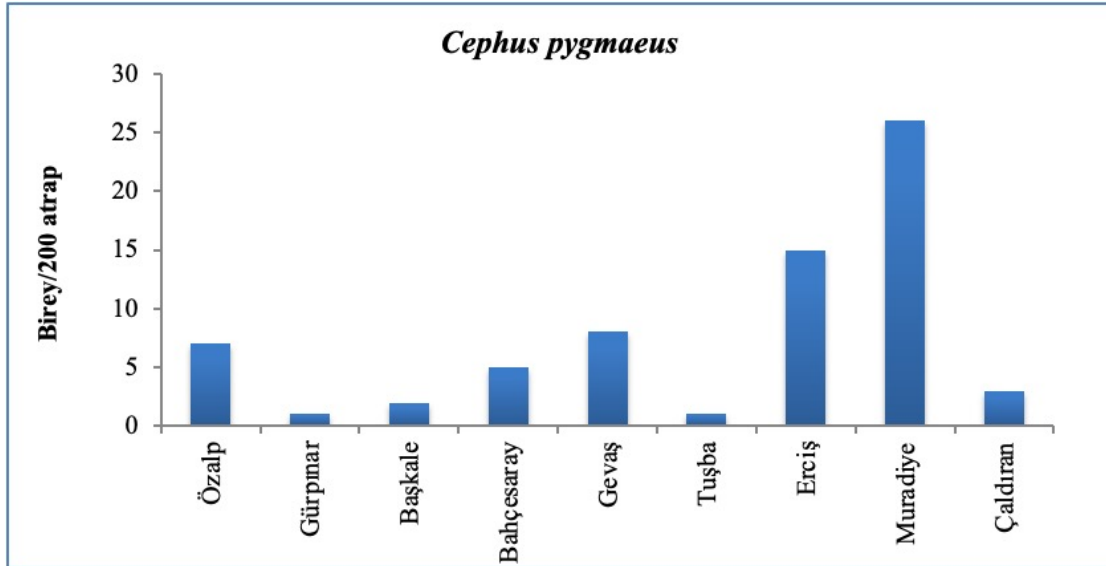
Diğer bir önemli zararlı olan *Cephus pygmaeus* L. (Hymenoptera: Cephidae) ise 9 farklı ilçede ve 17 örnekleme noktasında bulunmuştur (Çizelge 1, Şekil 3). En yoğun rastlandığı ilçe Muradiye (26 birey/atrap) ve Erciş (15 birey/atrap) ilçeleri olmuştur.

Buğday zararlısı olarak bilinen Ekin bambul böceği, *Anisoplia* cinsine bağlı 6 tür bulunmuş ancak 5 türün kesin tanısı yapılabilmmiştir. Bu türlerin hemen hemen tüm alanlarda yaygın oldukları saptanmıştır. Zararlıya en yoğun olarak 13’er birey/atrap ile Saray ve Bahçesaray’da rastlanmıştır (Çizelge 1, Şekil 4).

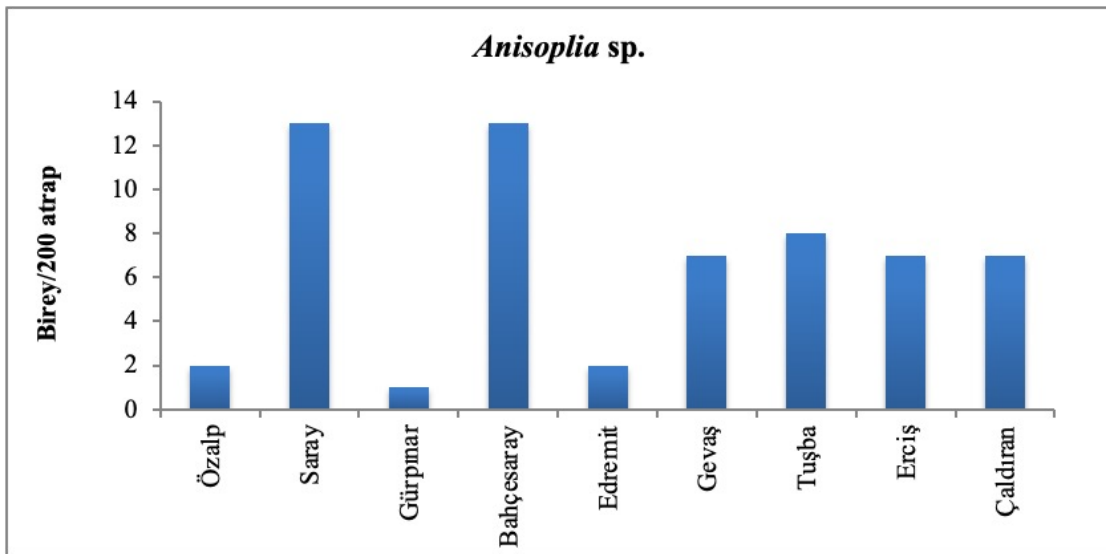
Kımlı, *Aelia rostrata* Boh., sadece Çatak’ta 1 adet bulunmuştur (Çizelge 1). Yaprakbitlerinden *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) Erciş, Gürpınar ve Özalp’te ve *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera: Aphididae) Bahçesaray, Erciş, Gevaş, Gürpınar ve Muradiye ilçelerinde kaydedilmiştir (Çizelge 1).



Şekil 2. Van ve ilçelerinde *Eurygaster integriceps*'in dağılışı ve yoğunlukları (birey/200 atrap).



Şekil 3. Van ve ilçelerinde *Cephus pygmaeus*'un dağılışı ve yoğunlukları (birey/200 atrap).



Şekil 4. Van ve ilçelerinde *Anisoplia sp.*'nin dağılışı ve yoğunlukları (birey/200 atrap).

Ekinlerde zararlı olan Ekin yaprak sülüğü, *Oulema* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae)'a Başkale, Çaldıran ve Muradiye ilçelerinde çok az sayıda rastlanmıştır (Çizelge 1).

Haplothrips sp. (Thysanoptera: Phlaeothripidae), Buğday thrips, Edremit, Erciş, Gevaş, Gürpınar, İpekyolu, Muradiye, Özalp ve Tuşba ilçelerinde bulunmuştur (Çizelge 1).

Buğday alanlarında yaygın olarak yararlı türlerden *Hippodamia variegata* Guérin-Ménéville, *Coccinella septempunctata* L., *Scymnus bivulnerus* Capra ve Fürsch, 1967 (Coleoptera: Coccinellidae), özellikle kırmızı listede olan ve koruma altında olan *Stenodema laevigata* (L.) (Hemiptera: Miridae) ve Neuroptera takımına bağlı *Crysoperla carnea* (Stephens) (Crysopidae) türleri en yaygın olan doğal düşmanlar olarak kaydedilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Van ili buğday ekiliş alanlarında görülen faydalı ve zararlı türler

Takım	Familya	Tür	Bulunduğu Yerler*
Coleoptera	Buprestidae	<i>Anthaxia</i> sp.	7
	Cantharidae	<i>Cantharus</i> sp.	1,3,6,7,11,12
		<i>Nemognatha</i> sp.	2,3,4,6,7,9,12,13
	Chrysomelidae	<i>Oulema</i> sp.	2,3,9
	Cleridae	<i>Trichodes</i> sp.	11
	Coccinellidae	<i>Adalia bipunctata</i>	1
		<i>Coccinella septempunctata</i>	1,2,5,6,7,8,9,10,12,13
		<i>Coccinula</i> sp.	1
		<i>Hippodamia variegata</i>	1,4,5,6,7,8,9,10,12,13
		<i>Scymnus bivulnerus</i>	1,2,5,7,11,13
		Curculionidae	<i>Andrion</i> sp.
	<i>Celebia arrogans</i>		5,6,7,8
	<i>Pachytychius hordei</i>		1,7
	Rutellidae		<i>Anisoplia austriaca</i>
		<i>Anisoplia lata</i>	2
		<i>Anisoplia signata</i>	1,2,3
		<i>Anisoplia</i> sp.	9
		<i>Blitopertha nigripennis</i>	2,3,10,11
		<i>Brancoptia leucaspis</i>	1,3,6,7,10,11,13
	Scarabeidae	<i>Chaetopteroptia segetum</i>	1,3,5,6,7,8,11,13
		<i>Epicometis hirta</i>	1,7,8,11,12,13
		<i>Eulasia chrysopyga</i>	1,4,7,11,13
	Meloidae	<i>Mylabris impressa</i>	5,7,12,13
	Cantharidae	<i>Cantharis livida</i>	1,3,6,7,11,13
	Chrysomelidae	<i>Oulema melonopus</i>	2,3,10
	Tenebrionidae	<i>Alobates pennsylvanica</i>	3,7
Hemiptera	Acanthosomatidae	<i>Elasmucha</i> sp.	1,2,3,4,5,6,7,8,12,13
	Aphididae	<i>Schizaphis graminum</i>	6,8,11
		<i>Sitobion avenae</i>	1,6,7,8,10
	Cercopidae	<i>Cercopis vulnerata</i>	1
	Cicadellidae	<i>Aphrodes diminutus</i>	1,8,10,11,12
	Coreidae	<i>Coriomeris denticulatus</i>	7,8,11
	Miridae	<i>Deraeocoris</i> sp.	7,10
		<i>Grypocoris fieberi</i>	7,11
		<i>Lygus rugulipennis</i>	3,6,8,10
		<i>Stenodema laevigata</i>	1,2,3,4,5,6,7,8,10,12,13
	Nabidae	<i>Nabis alternatus</i>	1,5,7,8,10,13
	Pentatomidae	<i>Carpocoris</i> sp.	6
		<i>Eurydema ornatum</i>	7
		<i>Eurydema ventralis</i>	7
		<i>Graphosoma lineatum</i>	8
		Reduviidae	<i>Triatoma</i> sp.
	Scutelleridae	<i>Aelia rostrata</i>	4
		<i>Odontotarsus purpureolineatus</i>	6
		<i>Eurygaster integriceps</i>	1,2,3,4,6,7,11,13

* 1: Bahçeşaray, 2: Başkale, 3: Çaldıran, 4: Çatak, 5: Edremit, 6: Erciş, 7: Gevaş, 8: Gürpınar, 9: İpekyolu, 10: Muradiye, 11: Özalp, 12: Saray, 13: Tuşba.

Çizelge 1. Van ili buğday ekiliş alanlarında görülen faydalı ve zararlı türler (devam)

Takım	Familiya	Tür	Bulunduğu Yerler*
Diptera	Agromyzidae	<i>Chromatomyia</i> sp.	1,2,3,6,7,8,10,11,12,13
	Asilidae	<i>Dysmachus triganus</i>	1,3,6,8,10,12
		<i>Promachus</i> sp.	7
	Calliphoridae	<i>Phaenicia sericata</i>	6,10,12,13
	Chloropidae	<i>Chloropsis pumilionis</i>	3,4
	Lauxaniidae	<i>Minettia flaveola</i>	1,2,8,10,11
	Stratiomyidae	<i>Hedriodiscus</i> sp.	5,7,11,13
	Syrphidae	<i>Sphaerophoria rueppelli</i>	1,3,4,6,7,8,10,12,13
	Tachinidae	<i>Phasia subcoleopterata</i>	6,8
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Colletes slevini</i>	1,4,5,6,7,8,9,10,12,13
	Cephididae	<i>Cephus pygmaeus</i>	1,3,4,6,7,8,9,11,12
	Formicidae	<i>Companatus vagus</i>	1,2,3,6,7,8,9,11,12,13
	Ichneumonidae	<i>Collyria coxator</i>	1,3,4,6,7,8,9,11,12
		<i>Diadegma crassicornis</i>	8
	Pteromalidae	<i>Pachyneuron</i> sp.	5,6
Orthoptera	Gryllidae	<i>Gryllus bimaculatus</i>	5,7,8,13
	Tettigonidae	<i>Tettigonia viridissima</i>	6,13
Neuroptera	Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i>	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13
		<i>Chrysoperla nipponensis</i>	2,3,12
Tysanoptera	Phlaeothripidae	<i>Haplothrips</i> sp	5,6,7,8,9,10,11,13

* 1: Bahçesaray, 2: Başkale, 3: Çaldıran, 4: Çatak, 5: Edremit, 6: Erciş, 7: Gevaş, 8: Gürpınar, 9: İpekyolu, 10: Muradiye, 11: Özalp, 12: Saray, 13: Tuşba.

Çizelge 2. Van ili ve ilçelerinde buğday alanlarının biyolojik çeşitliliği ve benzerlik indeksleri

İlçeler	Shannon Wiener İndeksi (H')	Benzerlik İndeksi
Bahçesaray	3.307	0.864
Başkale	2.509	0.824
Çaldıran	2.252	0.709
Çatak	0.975	0.423
Edremit	2.725	0.857
Erciş	2.957	0.838
Gevaş	3.196	0.866
Gürpınar	2.739	0.874
İpekyolu	2.745	0.817
Muradiye	2.043	0.707
Özalp	2.674	0.821
Saray	1.704	0.629
Tuşba	2.150	0.615

Buğday alanlarında bulunan türlerin sayısı ve yoğunluklarının ilçelere göre genel denge durumları ve çeşitlilik indeksleri Shannon-Wiener indeksleri yardımıyla belirlenmiş ve sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Genel olarak biyolojik çeşitlilik indeksinin birçok habitatta yüksek olduğu yüksek olduğu, özellikle Bahçesaray ve Gevaş ilçelerinde diğer ilçelere göre en yüksek seviyede olduğu, habitatların genel denge durumlarının genel olarak iyi durumda olduğu görülmektedir. Bahçesaray, ilçeyi çevreleyen yüksek dağlar ve özel coğrafik yapısı nedeniyle çevresinden kısmen izole bir bölgedir. Tarımsal üretime çok uygun alanlar bulunmamasıyla birlikte doğal ceviz plantasyonlarının ve bitk örtüsünün zenginliği sınırlı buğday üretim alanlarını da çeşitlilik yönünden etkilemiş olabilir. Gevaş ilçesi ise coğrafik ve iklim özellikleri nedeniyle ve diğer bölgelere kıyasla tarımsal üretim çeşitliliğinin yüksek ve yoğun olduğu bir bölge olması nedeniyle buğday alanlarındaki çeşitliliğin olumlu etkilendiği düşünülmektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Van ve çevresinde buğday alanlarında buğday zararlıları içinde anahtar zararlı konumunda olan türlerin çok az sayıda ve yaygın olmamaları çalışmada tespit edilen önemli bir bulgudur. Bunun en

büyük nedenlerinden biri iklim şartlarının etkisi ve doğal düşmanların etkinliği olabilir. Bölgede tarımsal ürün üretimi iklim şartlarına ve coğrafik yapıya bağlı olarak sınırlı alanlarda yapılmakta ve ayrıca tarımsal zararlılara karşı kimyasal ilaç kullanımı da çok fazla değildir. Bu nedenle doğal alanlarda türlerin korunumu daha iyi durumda ve büyük ölçüde biyolojik çeşitlilik denge düzeyindedir. Çizelge 1’de listelenen türler incelendiğinde bu durum daha iyi görülebilmektedir. Tür çeşitliliğinin fazlalığı, türlerin çoğunun genel fitofag türler olması ve doğal düşmanlardan avcı ve parazitoitlerin fazlalığı doğal denge unsurlarının bu alanlarda kısmen de olsa tesis edilmiş olduğunu açıklamaktadır.

Çalışmada bu bölgedeki buğday alanlarında 66 tür saptanırken, Orta Anadolu’da Altınayar (1975) tarafından yapılmış benzer bir araştırmada 76 tür tespit edilmiştir. İklim ve ekolojik özellikleri yakın olan bu bölgeler arasında tür sayısının benzer olmasına karşın, Adana buğday agro-ekosisteminde Sayan (2010) tarafından 109 tür saptanmıştır. Tarımsal üretim çeşitliliğinin çok yüksek olduğu Adana ile iklim ve coğrafik yapısı nedeniyle tarımsal alanların ve üretim çeşitliliğinin çok sınırlı olduğu Van ili kıyaslandığında bu çalışmada saptanan tür sayısı iyi seviyededir.

Buğday üretiminin temel sorunlarından olan ve geniş ölçekli savaşım gerektiren *Eurygaster integriceps* ve yine önemli buğday zararlılarından *Cephus pygmaeus* ve *Anisoplia* türlerine bölgede çok az sayıda rastlanması ve genel olarak üreticiler tarafından şikâyet konusu olmaması sevindirici bir durumdur.

Buğday alanlarında genellikle yabancı ot mücadelesi yapılmadığı için, birçok tarlada bazen yabancı ot yoğunluğunun buğdaydan daha fazla olduğu görülmüştür. Bölgenin genel durumu bu şekilde olduğu için buğday tarlalarında böcek çeşitliliği genel olarak yüksek bulunmuştur. Çeşitlilik, belli bir topluluğun veya çevrenin mekânsal heterojenlik, birincil üretim, üretkenlik, rekabet, avlanma, niş gibi özellikleriyle çeşitli şekillerde ilişkilendirilmektedir (Heip ve Engels, 1974).

Özellikle Bahçesaray, Gevaş ve Erciş ilçelerinde çeşitlilik katsayısı tüm ilçelerden daha yüksek bulunmuştur. Bu bölgelerin daha sıcak iklime sahip olduğu ve bitki çeşitliliğinin de genel olarak Van ili ve diğer ilçelerinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bahçesaray bilhassa özel coğrafyası nedeniyle bir mikroklima özelliğine sahip olması nedeniyle çok zengin bitki örtüsü, doğal flora ve faunasıyla öne çıkmaktadır. Nitekim yapılan örneklemelerde bu bölgelerden elde edilen türlerin çeşitliliği ve yoğunlukları biyolojik çeşitlilik indekslerinin ve genel denge durumlarının oldukça iyi seviyede olduğunu göstermiştir. Sadece Çatak ilçesinde hem çeşitlilik ve hem de benzerlik indekslerinin düşük olması bu bölgenin çok fazla dağlık oluşu, tarla alanlarının çok az olması sebebiyle iklim ve bitki örtüsünün etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Sulama, gübreleme ve tarımsal faaliyetlerin yapılmamasının biyolojik çeşitlilik üstünde önemli ve olumlu etkilere sahip olduğu yönünde benzer bir araştırma Çukurova bölgesinde Bulu (1995) tarafından yürütülen araştırma ile de benzerlik göstermektedir. Araştırmacı insan eliyle uygulamaların yapılmadığı veya az yapıldığı yerlerde doğal dengenin daha az bozulduğunu bildirmektedir.

Çalışma sonunda Van ve çevresinde ilk kez buğday alanlarında yürütülmüş olan bu araştırma ile bölgenin mevcut faunasına ilişkin ilk envanter kayıtlar ortaya çıkarılmıştır. Buğday alanlarında ekonomik olarak çok önemli buğday zararlısı türler bu çalışma ile saptanmış olmakla birlikte sayısal yoğunluklarının çok fazla olmadığı ve aynı alanda çok sayıda yararlı böceğin bulunması nedeniyle de doğal denge durumunun korunduğu sonucunu çıkarmıştır. Kültür bitkilerinde zararlıların zarar düzeyleri doğal dengesi bozulmuş habitatlarda kolayca yükselebilmektedir. Doğal dengenin bozulmasının temel nedenlerinden biri yanlış ve aşırı kimyasal ilaç uygulamalarıdır. Van ve çevresinde buğday yetiştirilen alanlarda diğer tarımsal faaliyetlerin çok az yürütülmesi ve kimyasal savaş uygulamalarının sınırlı olarak yapılması bölgede bilhassa buğday alanlarında biyolojik çeşitliliğin yüksek olması ve doğal denge unsurlarının korunması adına avantajlı bir durum olarak değerlendirilmektedir. Bu durumun sürdürülmesi ileriki yıllarda da buğday alanlarında önemli entomolojik sorunların ortaya çıkmaması için yararlı olacaktır.

Teşekkür

Çalışmanın yürütülmesinde Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına (desteklenen proje numarası, FBA-2017-5885), tür teşhislerinin yapılmasında Dr. Öğr. Üyesi Buket Bakan (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik), D. Denis Keith (Museum des Sciences naturelles et de Préhistoire, Chartres), Dr. Öğr. Üyesi Derya ŞENAL

(Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi) ve Dr. Gülten Yazıcı (Zirai Mücadele, Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü)'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynakça

- Alkan, B. (1948). *Orta Anadolu Hububat Zararlıları (Zararlı Hayvan ve Böcekler)*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No 1. Ankara, 132 s.
- Altınayar, G. (1975). Ekin sap arıları [*Cephus pygmaeus* (L.) ve *Trachelus tabidus* (F.) (Hymenoptera: Cephidae)]'nın Konya ilinde biyo-ekolojileri, sebep oldukları ürün kayıpları ve savaş yolları üzerinde araştırmalar.
- Anonim (1995). *Ziraat Müdürlüğü Teknik Talimatı*. Zirai Mücadele Enstitüsü Yayınları, Ankara.
- Anonim (2021). Türkiye İstatistik Kurumu. Retrieved from www.tuik.gov.tr
- Bulu, Y. (1995). *Çukurova'da Sulanan ve Sulanmayan Buğday ve Pamuk Tarlalarındaki Böcek Faunasının Saptanması* (Yüksek Lisans Tezi). ÇÜ. Fen Bil. Ens., Bitki Koruma Anabilimdalı, Adana.
- Dörtbudak, Y. (1974). Güneydoğu Anadolu'da *Eurygaster* türleri, tanınmaları, yayılış alanları ve populasyon yoğunlukları üzerinde araştırmalar. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Zirai Müc. ve Zir.Kar. Gn. Md. Araştırma Eserleri Serisi Yedigün Mat., Ankara 40 s.
- Duran, M. (1971). *Orta Anadolu'da ekinlerde zarar yapan Ekin koşnili (Margarodes (Porphyrophora) tritici Bod.) üzerinde araştırmalar*. Bit. Kor. Bült. Ek. Yayın No: 1, 80 s.
- Duran, M., Altınayar, G., Koyuncu, N., & Dörtbudak, Y. (1979). Isparta ili hububat alanlarında Ekin güvesi (*Syringopais temperatella* Led.)'nin toprakta canlı kalma süresi, yol açtığı ürün kayıpları ve savaş yöntemleri üzerinde araştırmalar. *Bit. Kor.Bült.*, 18(1), 1-15 s.
- Elmalı, M. (1993). *Konya ilinde buğdaylarda zarar yapan yaprakbiti türleri ve faydalı faunanın tespiti ile en yaygın türün biyoekolojisi üzerinde araştırmalar*. Ankara Üni. Fen Bil. Ens., Bitki Koruma Anabilimdalı, Ankara, Doktora Tezi, 156s.
- Hatchett, J. H., Starks, K. J., & Webster, J. A. (1987). Insect and Mite Pests of Wheat. Ed: E. G. Heyne, Agronomy Monographs, <https://doi.org/10.2134/agronmonogr13.2ed.c34>.
- Heip, C., & Engels, P. (1974). Comparing species diversity and evenness indices. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 54(3), 559-563.
- Heip, C., Herman, P., & Soetaert, K. (1998). Indices of diversity and evenness. *Oceanis*, 24(4), 61-88.
- İmren, M., Toktay, H., Bozbuğa, R., Orakçı, G. E., Dababat, A., & Elekcioglu, İ. H. (2014). Uluslararası bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin Tahıl kist nematodları, *Heterodera avenae* (Wollenweber, 1924), *Heterodera filipjevi* (Madzhidov, 1981) Stelter and *Heterodera latipons* (Franklin, 1969) karşı genetik dayanıklılığının belirlenmesi. *Turkish Journal of Entomology*, 37(3), 277-282.
- İslamoğlu, M., & Kornoşor, S. (2003). Investigations on the adult parazitoits (Diptera, Tachinidae) of the sunn pest in owerwintering site and wheat fields in Gaziantep and Kilis. *Bitki Koruma Bülteni*, 43(1).
- Karman, M., Kaya, O., & Kavut, H. (1971). Ege bölgesi Meksika orjinli ve yerli buğdaylarında görülen buğday thripsi (*Haplothrips tritici*)'in zararlı olup olmadığı ile yaprak biti (*Aphis* spp.) kesafeti, türleri ve mücadelenin ekonomik olup olmadığı üzerinde ön çalışmalar. Proje E/105.633 Nihai Raporu.
- Kavut, H., & Kaya, O. (1979). Ege bölgesi'nin buğday hortumlu böceği (*Pachytychius hordei* Brulle)'nin biyoekolojisi yol açtığı ürün kayıpları ve kimyasal savaş yöntemleri üzerinde araştırmalar. *Zir. Müc. Araş. Yılığ.* 12.
- Koçak, E., & Kılınçer, N. (2002). Süne (*Eurygaster* spp., Het.: Scutelleridae)'nin aynı yumurta paketinin *Trissolcus* (Hym.: Scelionidae) türleri tarafından parazitlenme durumu. *Bitki Koruma Bülteni*, 42(1-4), 23-34.
- Korkmaz, E. M., Örgen, S. H., Gencer, L., Ülgentürk, S., & Başbüyük, H. H. (2010). Orta Anadolu Bölgesi buğday tarlalarındaki bazı ekin zararlıları ve parazitoitlerinin saptanması. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 34(3).
- Koyuncu, N. (1975). Burdur ilinde buğday hortumlu böceği (*Pachytychius hordei* Brulle)'nin yayılışı, morfolojisi, biyoekolojisi ve sebep olduğu ürün kayıpları ve savaşı üzerinde araştırmalar. *Ankara Z.M.A.E.*, 40, 112.

- Lodos, N. (1961). Türkiye, Irak, İran ve Suriye'de Süne (*Erygaster integriceps* Put.) Problemi Üzerine Araştırmalar. *Ege Üni. Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üni. Matbası, 51*, 115.
- Lodos, N. (1981). Pentatomoid pests of wheat in Turkey. *EPPO Bulletin, 11*(2), 9-12.
- Lodos, N., & Kavut, H. (1991). Süne (*Eurygaster integriceps* Put.-Heteroptera, Scutelleridae)'nin Türkiye'de yayılışı ile ilgili yeni bilgiler. *Türk. Entomol. Derg, 15*(2), 107-112.
- Lodos, N., & Önder, F. (1983). Süne (*Eurygaster integriceps* Put.)'nin Türkiye de yayılışı üzerinde düşünceler. *Bitki Koruma Bülteni, 23*(2), 53-60.
- Ludwing, J. A. (1988). *Statistical ecology primer on methods and computing*.
- Özberk, F., Karagöz, A., Özberk, İ., Ayhan, A., 2016. Buğday Genetik Kaynaklarından Yerel ve Kültür Çeşitlerine; Türkiye'de Buğday ve Ekmek. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 25: 218-233.
- Özder, N., & Toros, S. (1999). Tekirdağ İlinde Buğdaylarda Zarar Yapan Yaprak Biti Türleri (Homoptera: Aphidoidea) türlerinin saptanması üzerinde araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi, 23*(2), 101-110.
- Pielou, E. C. (1966a). The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of theoretical biology, 13*, 131-144.
- Pielou, E. C. (1966b). Shannon's formula as a measure of specific diversity: its use and misuse. *The American Naturalist, 100*(914), 463-465.
- Prescott, J. M., Burnett, P. A., Saari, E. E., Ransom, J., Bowman, J., de Milano, W., Singh, R. P., & Bekele, G. (1986). Wheat Diseases and Pests: a guide for field identification. *The International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT)*, 136.
- Sayan, M. (2010). *Adana'da buğday agro-ekosistemindeki böcek türlerinin belirlenmesi*. Adana.
- Shanower, T. G., & Hoelmer, K. A. (2004). Biological Control of Wheat Stem Sawflies: Past and Future. *Journal of Agricultural and Urban Entomology, 21*(4), 197-221.
- Spellerberg, I. F., & Fedor, P. J. (2003). A tribute to Claude Shannon (1916–2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the 'Shannon–Wiener' Index. *Global Ecology and Biogeography, 12*(3), 177-179.
- Tayakısı, İ. (1971). *Buğdayda Zararlı Olan Ekin Saparısı (Cephus spp.)'nin Antalya ve Maraş İllerinde Kıymetlendirme Sürveyi*. Adana Bölge Ziraat Araştırma Enstitüsü, Adana.
- Tayat, E., & Özder, N. (2016). Edirne ilinde buğday tarlalarında görülen yaprakbiti türleri (Hemiptera: Aphididae) üzerine araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Bülteni, 6*(1), 53-60.
- Whittaker, R. H. (1972). Evolution and measurement of species diversity. *Taxon, 21*(2-3), 213-251.
- Yüksel, M. (1968). *Güney ve Güneydoğu Anadolu'da Süne (Eurygaster integriceps Put.)'nin Yayılışı, Biyolojisi, Ekolojisi, Epidemiolojisi ve Zararı Üzerinde Araştırmalar*. T.C. Tarım Bakanlığı Ziraat Müc. ve Kar. Gn. Md. Yayınları No: 46, Teknik Bülten, Yenidesen Matb., Ankara, 255 s.
- Zwölfer, W. (1942). *Anadolu'nun Zararlı Bireylerinin Tanınması Üzerinde Etüd II., Süne, (Eurygaster integriceps Put.)'nin Kendisinin Muhit Hayatı Faktörlere Karşı Olan Münasebetleri*. Ziraat Vekâleti Neşriyatı, U. Sayı: 543, Nebat Hastalıkları Serisi 10.33, (Çeviren: M. A: Tolunay) Ankara, 66s.

**PUBLICATION GUIDELINES OF
YUZUNCU YIL UNIVERSITY JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES***

1. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences* is a scientific research journal that has been published in 1995. Journal of Agricultural Sciences (Agricultural Biotechnology, Agricultural Economics, Animal Science, Biosystems Engineering, Field Crops, Fisheries Engineering, Food Engineering, Horticulture, Landscape Architecture, Plant Protection, Soil Science and Plant Nutrition) is a refereed international journal published four times a year in March, June, September and December.
2. Research articles, technical notes and reviews written in English are published in our journal.
3. Articles submitted for publication must not be published elsewhere or sent to any journal for publication. Older studies more than ten years are not accepted to evaluate.
4. A research paper submitted to the journal for publication have following sections; English Abstract, Introduction, Material and Method, Results, Discussion and Conclusion and References. Results and Discussions can either be combined into one section.
5. Reviews should include a synthesis, interpretation, and evaluation of previous scientific studies and current developments by experienced authors in the field of research area (the corresponding author of the review should have at least 5 research articles in international refereed journals). Reviews published up to 10% of the number of articles published in each issue.
6. If the research paper is summarized from graduate theses, this should be given as a footnote on the first page.
7. Our journal adopts the **Open Source Publication Policy**.
8. The articles published in our journal must comply with the scientific ethics rules. Manuscripts should be prepared in accordance with internationally accepted code of ethics.
9. A copy of the report should be submitted with the manuscript in the studies where the Ethics Committee Report is required (studies related directly / indirectly to the animal).
10. The articles submitted to *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences* are controlled through the iThenticate software. Similarity Index (SI) of the article should be <20%; Each similarity ratio should be $\leq 5\%$. If the similarity index is above the acceptable limits, the article will be returned to the author(s) (no more than 3 plagiarism scans are performed for an article). If revisions are not made within 10 days, the article will be rejected. If the plagiarism is proved after the publication of the article, that article will be withdrawn and removed from the website immediately and the author(s) will not be able to submit a paper for a period of five years to the *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*.
11. All authors should sign the Copyright Form for the publication rights of their article to the *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*. The article will not be taken into consideration unless the Copyright Form is submitted by the authors.
13. The articles whose evaluation process is completed are published considering the date of submission. The articles are added to the first issue scheduled to be published as soon as they are ready for publication. The volume is published, after all articles will be published in the same volume are completed.
14. Response to control and correction postings to be sent to the author (s) during the page-layout the study should be replied within 15 days at the latest. The articles of the author (s) who are not responding within the specified period of time shall be forwarded for further volumes.
15. No changes are allowed in the study that is decided to be published. An author can publish a maximum of two study as a corresponding author, one without a corresponding author. The responsibility of the published study belongs to the author (s).
16. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences (YYU J AGR SCI)* does not charge any processing and publication fees for the publication process of the articles. Additionally, the author has the right to access any published article, including her/his own article.

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript preparation

1. Articles submitted for publication in our journal should be prepared according to the journal writing rules. The studies which are not in accordance with the writing rules will be returned to the authors and will not be accepted for peer review. It is mandatory to prepare a title page according to Title Page Template, and also to prepare the manuscript according to the Manuscript Template. Download: [Title Page Template & Manuscript Template](#).
2. In our journal, the writing language is English. A good quality of scientific writing is required. The research must be understandable by a general scientific readership and by specialists. The research problem is identified, existing knowledge relevant to the problem is analyzed, the hypothesis is clear. Sentences are simple, short, and direct, the style is concise and precise. Unnecessary and well-known info and unnecessary references should be avoided. Previously published data should be cited with reference to the formula and results. No reference of over 10 years should be used except for compulsory or exceptional cases.
3. Journal name abbreviations in the reference section should be arranged in accordance with "Web of Science Abbreviations". Abbreviations used in the article should be written in full and provided in the parenthesis in the first mention. In all articles, the SI (International System of Units) units of measure and the decimal point must be used as a decimal fraction (1.25 instead of 1,25). The blank should be used to separate the thousands (100 000 instead of 100000).
4. For printing, quality copies of pictures (300 dpi in JPG or TIFF format) should be sent as an additional file.
5. Journal writing rules are also print format. Therefore, the rules of writing should be prepared carefully by the authors. Articles that do not comply with the writing rules will be sent back to the authors.
6. Applications that have missing information in the system and are not prepared in accordance with the specified rules will not be processed.
7. Papers reporting field studies in crop production should preferably include the results of two years and/or multi-location studies.

MANUSCRIPT SUBMISSION AND COPYRIGHT ASSIGNMENT FORM

“*Manuscript Submission and Copyright Release Agreement*” sent to Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences from author(s) clearly states in writing to enable the journal to ensure that it has the exclusive distribution rights of the authors’ work after the article is accepted for publication. Therefore, the following agreement form must be filled and signed by author(s) for each article submission made to the journal.

The article title:.....

is herewith submitted for publication to “*Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*”.

We affirm that the article has been prepared in accordance with Author Instructions of Journal of Agricultural Sciences, YYU. We hereby also warrant and undertake that the article is original, and has not been published before, and it is not under consideration for publication in its final form in printed and electronic form. This Article contains no violation of any existing copyright or other third party right or any material of an obscene, libelous or otherwise unlawful nature and that to the best of my knowledge; this article does not infringe the rights of others.

When the article is accepted for publication, we as the authors, hereby agree to transfer all rights under existing copyright laws to the Journal-Yuzuncu Yil University, Turkey. Provided that the reference be given to Journal of Agricultural Sciences, the following rights reserved:

- a. The right to make further copies of all or part of the published article for our use in classroom teaching.
- b. The right to reuse all or part of this material in a compilation of our own works or in a textbook of which we are the author.
- c. The right to reuse all or a portion of the published article in publications of the institution.

For clarity, we shall inform the Journal of Agricultural Sciences, YYU-Turkey if we directly use of the published article.

We hereby agree that copies made under these circumstances will continue to carry the copyright notice that appeared in the original published work. We certify that we have obtained written permission for the use of text, tables, figures and/or photographs etc. from any copyright source(s), and we also agree to supply such written permission(s) to inform YYU-College of Agriculture, Turkey upon request. We as the authors, hereby affirm that we will not ask for monetary return from YYU-College of Agriculture, Turkey for the use of this material.

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

(This form must be signed by all authors and returned to the Editor Office of Yuzuncu Yil University, Journal of Agricultural Sciences)

PLEASE RETURN A SIGNED COPY OF THIS FORM TO:

(a fax or an email is acceptable, but the original must follow within 7 days)

Journal of Agriculture Sciences

Yuzuncu Yil University

Faculty of Agriculture

Phone: +90 432 225 13 92

Fax: +90 432 225 11 04

Email: yyujagrsci@gmail.com

65080, Campus, VAN, TURKEY