

9. | 2. | 2023

cilt
volume

sayı
issue

ağustos
august

e-ISSN: 2149-8245

Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi (IJAWS)

International Journal of
Agriculture and Wildlife Science



Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi

IJAWS

Cilt:9 Sayı:2

Ağustos 2023

e-ISSN: 2149-8245

SAHİBİ

Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI

Rektör, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu-Türkiye

BİLİMSEL YAYIN VE DERGİLER KOORDİNATORLÜĞÜ

Doç. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU - mustafayigitoglu@ibu.edu.tr
Koordinatör, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu-Türkiye

Doç. Dr. Fatma DEMİRAY AKBULUT - demiray_f@ibu.edu.tr
Koordinatör Yardımcısı, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu-Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Can DOĞAN - can.dogan@ibu.edu.tr
Koordinatör Yardımcısı, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu-Türkiye

SORUMLU MÜDÜR

Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ - vahdettinciftci@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye

BAŞ EDITÖR

Prof. Dr. Hakan KİBAR - hakan.kibar@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye

ALAN EDITÖRLERİ

Prof. Dr. Todd WEHNER	North Carolina State University, College of Agriculture and Life Sciences, North Carolina-USA
Prof. Dr. José Eduardo Brasil Pereira PINTO	Federal University of Lavras, School of Agricultural Sciences of Lavras, Lavras-Brasil
Prof. Dr. Handan ESER	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. Beyhan KİBAR	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. Halil KÜTÜK	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. Göksel ÖZER	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Samsun-Türkiye
Prof. Dr. Mustafa SÜRMEK	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Aydın-Türkiye
Doç. Dr. İhsan CANAN	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Doç. Dr. Cihangir KIRAZLI	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Doç. Dr. Nezih OKUR	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Doç. Dr. Ferit SÖNMEZ	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Doç. Dr. Kadir Ersin TEMİZEL	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Samsun-Türkiye
Doç. Dr. Gafur GÖZÜKARA	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Eskişehir-Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin SAUK	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Samsun-Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Zahit YEKEN	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Dr. Esin HAZNECİ	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Samsun-Türkiye

YAYIN KURULU

Prof. Dr. Mutallip GÜNDOĞDU	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. Mustafa İMREN	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. İlker KILIÇ	Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bursa-Türkiye
Doç. Dr. İlhan SUBAŞI	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Zahit YEKEN	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye

DANIŐMA KURULU

Prof. Dr. Maria Luisa BADENES
Prof. Dr. Shawn MEHLENBACHER
Prof. Dr. Halil KÜTÜK
Prof. Dr. Anita SOLAR
Prof. Dr. Petru TOMITA
Prof. Dr. Süleyman TEMEL
Assoc. Prof. Dr. Iurie MELNIC
Assoc. Prof. Dr. Sandeep Kumar VERMA
Dr. Luiz Eduardo Santos LAZZARINI

Valencian Institute for Agricultural Research, Valencia-Spain
Oregon State University, College of Agricultural Sciences, Oregon-USA
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
University of Ljubljana, Faculty of Biotechnical, Ljubljana-Slovenia
State Agrarian University of Moldova, Chisinau-Moldova
İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, İğdır-Türkiye
State Agrarian University of Moldova, Chisinau-Moldova
SAGE University, Institute of Biological Science, Indore-India
Federal University of Lavras, Agriculture Department, Lavras-Brasil

İNGİLİZCE DİL EDİTÖRÜ

Prof. Dr. B. Buhara YÜCESAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye

TEKNİK EDİTÖRLER

Dr. Abdurrahman Sami KOCA
Arş. Gör. Orkun EMİRALİOĞLU
Arş. Gör. Hakkı Ekrem SOYDEMİR

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye

HAKEM KURULU

Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, en az iki hakemin görev aldığı çift taraflı kör hakemlik sistemi kullanmaktadır. Hakem isimleri gizli tutulmakta ve yayımlanmamaktadır.

ADRES

Yazışma Adresi
Telefon
Faks
E-posta

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bolu-Türkiye
+90 0374 253 43 45
+90 374 253 43 46
ijawseditor@ibu.edu.tr

DİZİNLENME BİLGİLERİ

“Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi [JAWS]” yılda üçkez (Nisan-Ağustos-Aralık) yayınlanan hakemli, akademik uluslararası bir dergidir. **IJAWS’ da** yayınlanan yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir. Yayın dili Türkçe olmakla beraber diğer dillerde de yazılar yayınlanmaktadır. Yayınlanan yazıların bütün yayın hakları **IJAWS’ a** ait olup, yayıncının izni olmadan kısmen veya tamamen basılamaz, çoğaltılamaz ve elektronik ortama taşınamaz. Yazıların yayınlanıp yayınlanmamasından yayın kurulu sorumludur.” Ayrıca Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi Dergipark üyesidir.

Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi [JAWS];
TÜBİTAK – ULAKBİM TR Dizin (Ziraat ve Temel Bilimler Veri Tabanı),
DOAJ (Directory of Open Access Journals)
Cab Abstract

International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences

IJAWS

Volume:9 Issue:2

August 2023

e-ISSN: 2149-8245

OWNER

Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI
Rektor, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu-Turkey

SCIENTIFIC PUBLICATIONS AND JOURNALS COORDINATOR

Assoc. Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU - mustafayigitoglu@ibu.edu.tr
Coordinator, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu-TURKEY

Assoc. Prof. Dr. Fatma DEMİRAY AKBULUT - demiray_f@ibu.edu.tr
Coordinator Assistant, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu-TURKEY

Assist. Prof. Dr. Can DOĞAN - can.dogan@ibu.edu.tr
Coordinator Assistant, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu-TURKEY

RESPONSIBLE MANAGING EDITOR

Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ - vahdettinciftci@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-TURKEY

EDITOR IN CHIEF

Prof. Dr. Hakan KİBAR - hakan.kibar@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-TURKEY

FIELD EDITORS

Prof. Dr. Todd WEHNER	North Carolina State University, College of Agriculture and Life Sciences, North Carolina-USA
Prof. Dr. José Eduardo Brasil Pereira PINTO	Federal University of Lavras, School of Agricultural Sciences of Lavras, Lavras-Brasil
Prof. Dr. Handan ESER	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Prof. Dr. Beyhan KİBAR	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Prof. Dr. Halil KÜTÜK	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Prof. Dr. Göksel ÖZER	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Samsun-Turkey
Prof. Dr. Mustafa SÜRMEK	Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, Aydın-Turkey
Assoc. Prof. Dr. İhsan CANAN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Assoc. Prof. Dr. Cihangir KİRAZLI	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Assoc. Prof. Dr. Nezih OKUR	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Assoc. Prof. Dr. Ferit SÖNMEZ	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Assoc. Prof. Dr. Kadir Ersin TEMİZEL	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Samsun-Turkey
Assoc. Prof. Gafur GÖZÜKARA	Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, Eskişehir-Turkey
Assist. Prof. Dr. Hüseyin SAUK	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Samsun-Turkey
Assist. Prof. Dr. Mehmet Zahit YEKEN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Dr. Esin HAZNECİ	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Samsun-Turkey

EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Muttalip GÜNDOĞDU	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Prof. Dr. Mustafa İMREN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Prof. Dr. İlker KILIÇ	Bursa Uludağ University, Faculty of Agriculture, Bursa-Turkey
Assoc. Prof. Dr. İlhan SUBAŞI	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Assist. Prof. Dr. Mehmet Zahit YEKEN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey

ADVISORY BOARD

Prof. Dr. Maria Luisa BADENES	Valencian Institute for Agricultural Research, Valencia-Spain
Prof. Dr. Shawn MEHLENBACHER	Oregon State University, College of Agricultural Sciences, Oregon-USA
Prof. Dr. Halil KÜTÜK	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Türkiye
Prof. Dr. Anita SOLAR	University of Ljubljana, Faculty of Biotechnical, Ljubljana-Slovenia
Prof. Dr. Petru TOMITA	State Agrarian University of Moldova, Chisinau-Moldova
Prof. Dr. Süleyman TEMEL	İğdır University, Faculty of Agriculture, İğdır-Turkey
Assoc. Prof. Dr. Iurie MELNIC	State Agrarian University of Moldova, Chisinau-Moldova
Assoc. Prof. Dr. Sandeep Kumar VERMA	SAGE University, Institute of Biological Science, Indore-India
Dr. Luiz Eduardo Santos LAZZARINI	Federal University of Lavras, Agriculture Department, Lavras-Brasil

ENGLISH LANGUAGE EDITOR

Prof. Dr. B. Buhara YÜCESAN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Türkiye
------------------------------------	--

TECHNICAL EDITORS

Dr. Abdurrahman Sami KOCA	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Res. Assist. Orkun EMİRALİOĞLU	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey
Res. Assist. Hakki Ekrem SOYDEMİR	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Turkey

REFEREE BOARD

International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences, uses double-blind review fulfilled by at least two reviewers. Referee names are kept strictly confidential.

ADDRESS

Contact Address	Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, Bolu-Türkiye
Telephone	+90 0374 253 43 45
Fax	+90 374 2534346
E-Mail	ijawseditor@ibu.edu.tr

ABSTRACTING AND INDEXING SERVICES

“**International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences [JAWS]**” is a peer-reviewed, international journal published three times a year (April-August-December). The scientific and legal responsibility of the articles published in **IJAWS** belongs to the authors. Although the language of publication is Turkish, articles are published in other languages. All publication rights of the published articles belong to **IJAWS** and cannot be printed, reproduced or transferred to the electronic media in whole or in part without the permission of the publisher. The editorial board is responsible for publishing the articles.

International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences [JAWS];
TUBITAK ULAKBİM TR Index (Agriculture ve Basic Sciences Database),
DOAJ (Directory of Open Access Journals)
Cab Abstract

İçindekiler/Contents

i - vi | Jenerik/Generic

Makaleler/Articles

Bahçe Bitkileri / Horticultural Sciences

111 - 121 | A.Aytekin Polat

Alıç anacının Hafif Çukurgöbek Yenidünya Çeşidinde Vejetatif Büyüme, Çiçeklenme ve Meyve Tutumu Üzerine Etkilerinin Ön Sonuçları

Preliminary Results of Effects of Hawthorn Rootstock on Vegetative Growth, Flowering and Fruit Set in Loquat cv. 'Hafif Çukurgöbek'

122 -134 | Fikri Balta

Anatomical and Histological Development of the Union of Splice Grafting in Hazelnut

Fındıkta Dilciksiz Aşı Tekniğinde Kaynaşmanın Anatomik ve Histolojik Gelişimi

135 -142 | Levent Arın, Ömer Çerençe

Yaşlı Pırasa (*Allium porrum* L.) Tohumlarının Çıkış ve Fide Gelişimine Hidro ve Osmoprining Uygulamalarının Etkisi

Effect of Hydro-and Osmoprining on The Emergence and Seedling Growth of Naturally Aged Leek (*Allium porrum* L.) Seeds

Bitki Koruma / Plant Protection

143 - 152 | Deniz Çakar, Seçil Akıllı Şimşek

Role of the Fungal Flora on Kernel Rot of Chestnuts

Kestane Meyve Çürüklüğünde Fungal Floranın Rolü

153 - 161 | Sedat Akçın, Gülay Kaçar

Bolu İlinde Patates Böceği *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'nin Doğal Düşmanları ve Kışlama Özelliklerinin Belirlenmesi

Determination of Natural Enemies and Overwintering of Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) in Bolu

162 - 175 | Gürsel Çetin, Pınar Hephızlı Göksel, Cemil Hantaş, Mehmet Emin Akçay

Akdeniz meyvesineği, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nin Marmara Bölgesi Meyve Bahçelerine Bulaşma Yolları, Kışlama Durumu ve Alınması Gerekli Önlemler

The Transmission Pathways of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), (Diptera: Tephritidae) into Fruit Orchards of the Marmara Region, Capacity of Overwintering and the Precautions Should Be Taken

176 - 185 | Onur Akı, Ebubekir Yüksel, Mustafa İmren, Refik Bozbuğa, Ramazan Canhilal

The Role of Storage Duration and Conditions on the Survival and Pathogenicity of Entomopathogenic Nematodes

Depolama Süresi ve Koşullarının Entomopatojen Nematodların Canlılığı ve Patojenitesi Üzerindeki Rolü

Tarım Makinaları / Agricultural Machinery

186 - 195 | Hamide Ersoy, Ebubekir Altuntaş

Determining of Some Engineering Properties for Harvest and Post Harvest Applications of Two Common Cultivated Hazelnuts Cultivars in Türkiye

Türkiye’de Yaygın Olarak Yetiştirilen İki Fındık Çeşidinin Hasat ve Hasat Sonrası Uygulamalar İçin Mühendislik Özelliklerinin Belirlenmesi

Tarımsal Biyoteknoloji / Agricultural Biotechnology

196 - 204 | Ahmet Okumuş, Fatih Bilge

RT-PCR Analysis of Caucasian and Mugla Honey Bees by SNP Markers of Chalkbrood Disease

Kafkas ve Muğla Bal Arılarının Tebeşir Hastalığının SNP Belirteçleri ile RT-PCR Analizi

Tarımsal Yapılar ve Sulama / Agricultural Structures and Irrigation

205 - 217 | Şefik Tüfenkçi, Caner Yerli

Physical and Physiological Properties and Mineral Content of Curly Lettuce Grown by Applying Different Rates of Biochar to the Soil with Varying Irrigation Water Levels

Değişen Sulama Suyu Seviyeleriyle Toprağa Farklı Oranlarda Biyoçar Uygulanarak Yetiştirilen Kıvrıkcık Marulun Fiziksel ve Fizyolojik Özellikleri ile Mineral Madde İçeriği

218 - 228 | Umut Kılıç, Büşra Yaylı, İlker Kılıç

Rainwater Harvesting and System Design in Livestock Farms

Hayvancılık İşletmelerinde Yağmur Suyu Hasadı ve Sistem Tasarımı

Tarla Bitkileri / Field Crops

229 - 238 | Vedat Beyyavaş, Leyla Doğan, Hasan Haliloğlu

Kuru ve Sulu Koşullarda Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinin Yağ Asidi Kompozisyonlarının Belirlenmesi

Determination of Fatty Acid Compositions of Some Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cultivars in Dry and Wet Conditions

239 - 251 | Sevda Taşan
Seed Priming with Ascorbic Acid to Ameliorate the Effects of Salinity Stress on Germination and Growth Traits of Rapeseed (*Brassica napus* L.)
Tuzluluk Stresinin Kolza Tohumunun (*Brassica napus* L.) Çimlenme ve Büyüme Özellikleri Üzerindeki Etkilerini İyileştirmek İçin Askorbik Asit ile Tohum Hazırlama

252 - 261 | Muhittin Bağcı, Yusuf Arslan, Mustafa Yaşar, Berfin İşler, Sefa Ünal
Investigation of Yield and Yield Components of Some Flax (*Linum usitatissimum* L.) Varieties in Ankara Ecological Conditions
Bazı Keten (*Linum usitatissimum* L.) Çeşitlerinin Verim ve Verim Unsurlarının Ankara Ekolojik Koşullarında Araştırılması

262 -277 | Ahmad Alsaleh
Durum Wheat Breeding for Enhanced Safety and Nutritional Value: A GWAS Approach to Tackling Aluminum Uptake
Gelişmiş Güvenlik ve Besin Değeri için Makarnalık Buğday Islahı: Alüminyum Alımıyla Mücadelede Bir GWAS Yaklaşımı

Zootekni/ Zootechnics

278 - 288 | Ali İhsan Atalay, Ramazan Tosun, Ali Kaya
Katı Faz Fermantasyonunun Çayır Otu Besin Madde İçeriği ve Anti-Metanojenik Özelliklerine Etkisi
Effect of Solid State Fermentation on Meadow Grass Nutrient Content and Anti-Methanogenic Properties



Alıç anacının Hafif Çukurgöbek yenidoğruya çeşidinde vejetatif büyüme, çiçeklenme ve meyve tutumu üzerine etkilerinin ön sonuçları*

Preliminary results of effects of hawthorn rootstock on vegetative growth, flowering and fruit set in loquat cv. 'Hafif Çukurgöbek'

Atıla Aytekin Polat¹ 

Geliş Tarihi (Received): 13.12.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 25.05.2023

Yayın Tarihi (Published): 21.08.2023

Öz: Çalışmanın amacı, alıç anacının Hafif Çukurgöbek (HÇG) yenidoğruya çeşidinin vejetatif büyümesi, fenolojik özellikleri, çiçeklenme ve meyve tutum oranları üzerine etkisini araştırmaktır. Çalışmada, yenidoğruya çöğür anacı da kontrol olarak kullanılmıştır. Anaç/çeşit kombinasyonlarının, vejetatif büyümesi (anaç ve gövde çapı, yıllık sürgün uzunluğu) çiçeklenme dönemleri (çiçeklenme başlangıcı, ilk çiçeklenme, tam çiçeklenme, çiçeklenme sonu ve meyve tutumu tarihleri) ile çiçek salkım özellikleri (salkım uzunluğu, salkımdaki somak, çiçek tomurcuğu ve açan çiçek sayıları ile salkımdaki tutan ve derimi yapılan meyve sayıları) incelenmiştir. Ayrıca, anaçlara göre çiçeklenme ve meyve tutum oranları belirlenmiştir. Tüm çiçeklenme dönemleri, alıç anacı üzerindeki bitkilerde, yenidoğruya çöğür anacından daha erken meydana gelmiştir. Alıç anacına aşılı olan bitkiler, yenidoğruya anacına aşılı olanlara göre meyve deriminde iki gün erkencilik sağlamıştır. Gerek salkım uzunluğu gerek salkımın öteki özellikleri bakımından anacı yenidoğruya çöğürü olan bitkiler, alıç anacına aşılı bitkilere göre daha yüksek değerler verirken, küçük meyve ve derimi yapılan meyve sayısı bakımından alıç anacına aşılı bitkiler, daha iyi sonuçlar vermiştir. Anacı alıç olan bitkilerin çiçeklenme oranı (%93.52) anacı yenidoğruya çöğürü (%89.00) olanlara göre daha yüksek olmuştur. Salkımdaki ilk meyve, küçük meyve ve derimi yapılan meyve oranları bakımından da anacı alıç olan bitkilerden (sırasıyla %11.16, %7.91 ve %6.29) daha yüksek değerler elde edilmiştir. Yıllık sürgün uzunluğu, kalem ve anaç çapı bakımından yenidoğruya çöğür anacı, alıç anacına göre önemli düzeyde daha yüksek değerler vermiştir. İncelenen öteki bütün parametreler bakımından da yenidoğruya çöğür anacının daha kuvvetli vejetatif büyüme gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen bu ilk verilere göre alıç anacı, yenidoğruya çöğür anacına göre üzerine aşılı kalemde yaklaşık %60 bodurluk sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bodur anaç, *Eriobotrya japonica* Lindl., Çiçeklenme, Alıç

&

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of hawthorn rootstock on vegetative growth, phenological characteristics, flowering and fruit set rates of 'Hafif Çukurgöbek (HCG)' loquat cultivar. In the study, loquat seedling rootstock was also used as a control. Phenological observations such as the flowering periods (beginning of flowering, first flowering, full bloom, end of flowering, and fruit set dates), the inflorescence characteristics (cluster length, number of peduncle/cluster, number of flower buds/cluster, number of flowers/cluster, number of fruit set/cluster, number of harvesting fruits/cluster), and vegetative growth parameters (annual shoot length, trunk diameter of stock and scion) of the cultivar/rootstock combinations were investigated. In addition, percent blossom ratios, % initial fruit set, and % final fruit set were determined according to the rootstocks during the experimental period. All flowering periods occurred earlier in plants on hawthorn rootstock than loquat seedling rootstock. Plants grafted on hawthorn rootstock provided two days of earliness in fruit harvest date compared to those grafted on loquat rootstock. While the plants with loquat seedling rootstock gave higher values than the plants grafted on hawthorn rootstock in terms of both cluster length and other characteristics of the cluster, plants grafted on hawthorn rootstock gave better results in terms of small fruit and the final fruit set. The flowering rate of plants with hawthorn rootstock (93.52%) was higher than those with loquat seedling rootstock (89.00%). In terms of the initial fruit, small fruit and final fruit set ratios in the cluster, higher values were obtained than the hawthorn rootstock (11.16%, 7.91% and 6.29%, respectively). Loquat seedling rootstock gave significantly higher values than hawthorn rootstock in terms of annual shoot length, scion and rootstock diameter. In terms of all the other parameters examined, it was determined that the loquat seedling rootstock showed stronger vegetative growth. According to these first data obtained, hawthorn rootstock provides approximately 60% dwarfing in grafted scion compared to loquat seedling rootstock.

Keywords: Dwarf rootstock, *Eriobotrya japonica* Lindl., Flowering, Hawthorn

Atıf/Cite as: Polat, A.A. (2023). Alıç anacının Hafif Çukurgöbek yenidoğruya çeşidinde vejetatif büyüme, çiçeklenme ve meyve tutumu üzerine etkilerinin ön sonuçları. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 9 (2), 111-121. doi: 10.24180/ijaws.1218663

İntihal-Plagiarizm/Etik-Ethic: Bu makale, en az iki hakem tarafından incelenmiş ve intihal içermediği, araştırma ve yayın etiğine uyulduğu teyit edilmiştir. / This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Prof. Dr. Atıla Aytekin Polat, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bölüm, Bahçe Bitkileri Bölümü, aapolat@mku.edu.tr (Sorumlu Yazar)

GİRİŞ

Modern meyve yetiştiriciliğinde kullanılan anaçlar, üzerlerine aşılana çeşitlerin vejetatif büyümesi ve generatif gelişmesi ile çiçek tomurcuğu oluşumu, meyve tutumu, verim ve meyve kalitesini farklı şekillerde etkilemektedir. Meyvecilikte bodur ve yarı bodur anaç kullanımıyla daha küçük hacimli ağaçlar elde edilmekte; bu anaçlar ile kurulacak bahçelerde daha sık dikim yapılarak, birim alandaki ağaç sayısında çöğür anaçlara göre 15-20 kata ulaşan artışlar sağlanmaktadır. Ayrıca, bodur anaçlar ile kurulan bahçelerde, budama, hastalık ve zararlılarla mücadele, hasat gibi kültürel işlemler daha kolay ve başarılı yapılabildiği gibi, bu gibi işlemler için gereken işçilik ve maliyet de azalmaktadır. Bu sayede de birim alana yapılan masraf azalırken, aynı alandan elde edilen ürün ve gelir artış göstermektedir. Bu nedenle, yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren meyve yetiştiriciliğinde kullanılan bodur anaçlar sayesinde ağaçlar arası dikim mesafeleri azalmış, birim alana düşen ürün miktarı ve elde edilen gelirden önemli artışlar meydana gelmiştir (Rom ve Carlson, 1987; Öz vd., 1995; Gerçekcioğlu vd., 2009; Bolat ve İkinci, 2019).

Ülkemiz yenedünya yetiştiriciliğinde, hali hazırda anaç olarak sadece yenedünya çöğür anacı kullanılmaktadır. Oysa, yenedünyalar çöğür anaç üzerine aşılandığında 5-10 m boyunda düzgün gövdeli, sık görümlü, yayvanla yuvarlak arasında taçlanan, birim alana dikilebilecek ağaç sayısını sınırlayan ve merdivenle meyve hasadını zorunlu kılan büyük taçlı ağaçlar oluşturmaktadır (Polat, 2018). Ayrıca büyük ağaçların çoğu gençlik kısırlığı göstermekte ve meyve verimine geç başlamaktadır (Janick, 2011). Bu nedenle, yenedünyada büyüme kuvvetinin azaltılması büyük önem taşımaktadır. Bitki büyüme kuvvetinin kontrol edilebilmesi için de zayıf ya da bodur anaçlardan yararlanılması gerekmektedir.

Ülkemizde son yıllarda yoğun yetiştiricilik ile ilgili farkındalığın artmasıyla yenedünyalarda bodur anaç üzerine aşılı fidanlara olan talep de artış göstermesine rağmen, bu talep karşılanmadığından anaç olarak yenedünya çöğürü kullanılmaktadır. Ancak, yetiştiricilerin bodur fidan talebinin karşılanarak yenedünyalarda sık dikim yetiştiriciliğinin geliştirilmesinin yanı sıra, bu yetiştiriciliğin avantajlarının araştırmalar ile belirlenerek yetiştiricilerin bilgisine sunulması gerekmektedir. Bu kapsamda, bodur anaç olarak kullanılabilme özelliklerinin araştırılması gereken türlerden biri de alıçtır. Nitekim, bazı bodur ayva anaçlarının, Hafif Çukurgöbek yenedünya çeşidine etkisini araştıran Akkuş (2020), planlanacak yeni çalışmalarda, bodur anaç olarak ayva klon anaçlarının yanı sıra kurağa dayanıklı olan alıç anacının da çalışılmasının büyük yararı olduğunu belirtmiştir.

Alıç, sistematik olarak, *Rosaceae* familyasının *Crataegus* cinsi altında yer almaktadır. Alıç, derinliği az, kurak, kumlu ve taşlı topraklarda, yetiştirilecek armutlar için iyi bir anaç özelliği taşımaktadır. Alıç anacına aşılana armutlar bodur kalmakta ve fazla büyümektedir (Al-Junaidee, 1977; Özbek, 1978; Abdollahi vd., 2012; Rahmati vd., 2015). Alıç, ayrıca elma için de anaç olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Diğer taraftan, pek yaygın olmamakla beraber, alıcın ayva için de anaç olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Ghasemi vd., 2013; Gharaghani vd., 2016; Valipour vd., 2018; Tataria vd., 2020). Ayrıca, kurak koşullara dayanıklı olması ve bodur büyüme göstermesi nedeniyle, küresel ısınmaya bağlı kuraklık ve olumsuz iklim şartlarında yetiştiriciliği sürdürülebilir kılması bakımından da alıç anacının diğer meyve türlerinin yanısıra yenedünyalarda da anaç olarak kullanılması büyük önem taşımaktadır.

Literatürde (Demir, 1987; Polat, 1995; Polat ve Kaska, 1992a), alıçların, yenedünya için anaç olarak kullanılabilmesi ifade edilmekle birlikte, bununla ilgili yapılmış yeterli sayıda araştırmaya veya anacı alıç olan fidanlarla tesis edilmiş herhangi bir yenedünya bahçesine rastlanmamıştır. Alıçların yenedünyalarda anaç olarak kullanımına ilişkin literatürde sadece üç araştırmaya (Jamil vd., 2012; Polat, 2020, 2021a) ulaşılabilmektedir. Ancak bu araştırmaların üçü de alıç anacına aşılana yenedünya çeşitlerindeki aşı başarısının belirlenmesini kapsamaktadır. Bu nedenle, alıçların yenedünyada anaç olarak kullanılabilme imkânlarının araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu bakış açısıyla, 2016 yılında başlatılan çalışmalarda, alıç anacının yenedünyada kullanılabilme potansiyelinin ortaya konulması, yenedünyalarda vejetatif büyüme, çiçek fenolojisi, meyve tutumu ve meyve kalite özellikleri ile verim üzerine alıç anacının etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu etkilerin bilimsel bulgularla ortaya konulabilmesi için planlanan bu çalışmada da alıç anacı üzerine aşılı HÇG yenedünya çeşidinin, fenolojik özellikleri, çiçek salkım özellikleri ile çiçeklenme ve meyve tutum oranları üzerine etkileri belirlenmiştir. Literatürde, Hafif

Çukurgöbek yenidünya çeşidinin incelenen bu özellikleri üzerine alıç anacının etkilerine ilişkin çalışmaların bulunmaması, araştırmamızın verilerine, alanındaki ilk veriler olma özelliği kazandırmakta ve literatüre katkı bakımından da önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca, bulgularımızın, yenidünya yetiştiricilerinin anaç seçiminde yol gösterici özelliklere sahip olduğu da söylenebilir.

MATERYAL VE METOT

Bu araştırma; 2019-2020 vejetasyon periyodunda, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait araştırma alanındaki yenidünya parselinde yürütülmüştür. Araştırma alanı, 36°12' doğu ve 36°52' kuzey enlem derecelerinde olup, denizden yüksekliği 80 metredir.

Materyal

Araştırmada, yenidünya ve alıç çöğür anaçlarına aşılı 10'ar adet 2 yaşlı Hafif Çukurgöbek (HÇG) yenidünya çeşidine ait ağaçlar kullanılmıştır. Denemenin yürütüldüğü bahçede, dikim aralığı, anacı alıç olanlarda 1.0 x 0.5 m olup, anacı yenidünya çöğürü olanlarda ise 1.0x1.0 metredir. Deneme materyali ağaçlar, Goble terbiye sistemi ile şekillendirilmiş olup damla sulama sistemiyle sulanmıştır. Araştırma alanın toprak ve iklim özellikleri aşağıda verilmiştir.

Araştırma Yerinin İklim ve Toprak Özellikleri

Araştırma Yerinin İklim Özellikleri

Deneme parselinin bulunduğu bölgenin (Antakya, Hatay) iklimi Akdeniz iklimi etkisi altında olup, kışları ılık ve yağışlı, yazları ise sıcak ve kurak geçmektedir. Çalışmanın yürütüldüğü her iki yılda da en yüksek ortalama sıcaklık ağustos ayında (sırasıyla; 28 °C ve 29 °C); en düşük ortalama sıcaklık ise ocak ayında (sırasıyla; 8.1 °C ve 8.3 °C) gerçekleşmiştir. En yüksek sıcaklık, 2019 yılında mayıs ayında 42 °C, 2020 yılında eylül ayında 47 °C olarak; en düşük sıcaklıklar ise 2019 yılında ocak ayında 1 °C, 2020 yılında şubat ayında -2.5 °C olarak belirlenmiştir (Anonim, 2020).

2019 yılında en fazla yağış 334.5 mm m⁻² ile aralık ayında, en az yağış 0.3 mm m⁻² ile mayıs ayında gerçekleşmiştir. 2020 yılında en fazla yağış 164.1 mm m⁻² ile ocak ayında meydana gelirken, temmuz, eylül ve ekim aylarında hiç yağış olmamıştır. 2019 yılında toplam yağış miktarı 1289.8 mm m⁻² olarak gerçekleşirken, 2020 yılında ise toplam yağış miktarı 669.5 mm m⁻² olmuştur (Anonim, 2020).

Araştırma Yerinin Toprak Özellikleri

Araştırmanın yapıldığı bahçenin 20 cm derinliğinden alınan toprak örneklerinde yapılan analizlere göre deneme alanı toprağı alkali özellikte (pH: 7.76), çok az kireçli (%2.4), orta tuzlu (EC microsiemens: 446) ve kumlu tınlı (Kum: %57.37; Kil: %17.3; Silt: %25.32), organik madde bakımından yetersiz (%1.44) ve K (73.81 ppm), P (9.78 ppm), Fe (6.43 ppm), Cu (1.13 ppm), Mn (4.69 ppm), Zn (1.4 ppm) içeriğine sahip yapıdadır.

Denemede Kullanılan Anaçların ve Çeşidin Genel Özellikleri

Denemede kullanılan anaçlar ile Hafif Çukurgöbek yenidünya çeşidinin bazı önemli özellikleri aşağıda verilmiştir.

Alıç; Rosaceae familyası, Maloidae alt familyası ve *Crataegus* cinsi altında yer almaktadır. Alıç, kışın yaprağını döken, ender olarak da yarı herdem yeşil, genelde dikenli çalı ya da ağaççık formunda bulunan odunsu bir bitki türüdür (Davis, 1972). Kurağa dayanıklı ve oldukça yavaş büyüyen bir bitki olması nedeniyle başta armut olmak üzere bazı meyve türlerinde bodurlaştırıcı anaç olarak kullanılmaktadır.

Yenidünya Çöğürü; Herdem yeşil, subtropik iklim koşullarında kuvvetli büyüyen ve üzerindeki kalemi de 5-10 metre büyüten bir anaçtır (Polat, 2021b). Bu anaç üzerinde, ağaçlar uzun ömürlü ve verimli olmaktadır.

Hafif Çukurgöbek; Seleksiyonla elde edilmiş erkenci bir çeşittir. Meyveleri orta irilikte, pembe portakal renkli ve gösterişli olup, taşımaya dayanıklıdır. Yenidünyalarda en büyük sorun teşkil eden karaleke hastalığına dayanıklıdır. Kendine verimli bir çeşit olup, 15-20 yaşlı bir bahçenin dekara verimi 1000-1200 kg'dır (Demir, 1987; Polat, 2021b).

Yöntem

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü olarak kurulmuş, her tekerrürde 2 ağaç kullanılmıştır.

Fenolojik Gözlemler

Denemedeki fenolojik gözlemler, Polat (2018) ve Akkuş (2020)'a göre aşağıda açıklandığı gibi yapılmıştır.

Çiçeklenme ile İlgili Gözlemler

Çiçeklenme başlangıcı: Tomurcuklarda taç yapraklarının görülmeye başladığı evre, çiçeklenme başlangıcı olarak kabul edilmiştir (Şekil 1a).

İlk çiçeklenme: Çiçeklerin %5'inin açtığı evre ilk çiçeklenme evresi olarak kabul edilmiştir (Şekil 1b).

Tam çiçeklenme: Çiçeklerin %70'inin açtığı evre tam çiçeklenme dönemi olarak değerlendirilmiştir (Şekil 1c).

Çiçeklenme sonu: Çiçeklerin %70'inin taç yapraklarını döktükleri evre çiçeklenme sonu olarak kabul edilmiştir (Şekil 1d).

Meyve tutumu: Çiçeklerin taç yapraklarını dökmelerinin ardından %70'inin meyveye dönüştüğü dönem, meyve tutum evresi olarak kabul edilmiştir (Şekil 1e).

Küçük meyve: Meyvelerin fındık büyüklüğüne ulaştığı evredir (Şekil 1f).

Meyve olgunluğu: Meyvelerin çeşide özgü koyu turuncu rengi aldığı evredir (Şekil 1h).

Salkım Özellikleri ile İlgili Gözlemler

Çiçek sayımları ve meyve tutum oranlarının belirlenmesi için her anaçtan 10 bitki seçilerek aşağıdaki sayımlar yapılmıştır.

Salkım uzunluğu (cm): Salkım sapının başlangıç kısmı ile salkımın en uç noktası arasındaki mesafe metre ile ölçülmüştür.

Salkımdaki somak sayısı: Her salkımdaki somak sayıları, en alttaki somaktan başlanarak salkımın ucuna kadar tek tek sayılmıştır.

Salkımdaki çiçek tomurcuğu sayısı: Her salkımdaki çiçek tomurcukları sayılarak belirlenmiştir.

Salkımdaki açan çiçek sayısı: Çiçeklenme sonu evresinde sayılarak belirlenmiştir.

Salkımdaki tutan meyve sayısı: Taç yapraklarının dökümünden 2 hafta sonra, meyvelerin fındık büyüklüğüne ulaştığı evre ve meyve derim döneminde olmak üzere üç dönemde meyveler sayılarak belirlenmiştir.



Şekil 1. Çiçeklenme başlangıcı (a), ilk çiçeklenme (b), tam çiçeklenme (c), çiçeklenme sonu (d), meyve tutumu (e), küçük meyve (f), olgunluk başlangıcı (g) ve olgun meyve (h) evreleri.

Figure 1. Beginning of flowering (a), first flowering (b), full bloom (c), end of blooming (d), fruit set (e), small fruit (f), beginning of maturity (g) and ripe fruit (h) phases.

Çiçeklenme ve Meyve Tutum Oranları ile İlgili Gözlemler

Çiçeklenme oranları (%): İlk olarak işaretlenmiş olan dal ve salkımlarda çiçeklenme sonunda açmış çiçekler sayılarak adet olarak belirlenmiştir. Daha sonra, açan çiçek sayısı, tomurcuk sayısına bölünerek 100 ile çarpılmış ve çiçeklenme oranı % olarak hesaplanmıştır.

İlk meyve tutumu (%): Taç yapraklarının dökümünden 2 hafta sonra meyveler sayılarak adetleri belirlenmiştir. Sonrasında, ilk tutan meyve sayısı, tomurcuk sayısına bölünmüş ve 100 ile çarpılarak ilk meyve tutum oranı elde edilmiştir.

Küçük meyve tutumu (%): İlk meyve tutumundan sonra meyvelerin fındık büyüklüğüne ulaştığı dönemde meyve tutum oranlarını belirlemek amacıyla sayımlar yinelenmiş ve meyve sayısı, tomurcuk sayısına bölünüp 100 ile çarpılarak küçük meyve tutum oranı elde edilmiştir.

Olgun meyve tutumu (%): Derim olumuna gelmiş olan meyvelerde sayımlar tekrarlanarak olgun meyve sayısı, tomurcuk sayısına bölünmüş ve 100 ile çarpılarak olgun meyve tutum oranı elde edilmiştir.

Vejetatif Büyüme ile İlgili Parametreler

Şubat 2020'den itibaren üç ay ara ile ölçüm yapılan bitkilerin vejetatif büyüme Polat vd. (2004; 2005) ile Akkuş (2020)'a göre belirlenmiştir.

Yıllık sürgün uzunluğu (cm): Farklı yönlerden birer adet olmak üzere her ağaçta 4 sürgünün uzunluğu metre ile ölçülmüştür.

Gövde çapı (mm): Ağaçların aşı noktasının 5 cm üstünden kalem çapı, 5 cm altından anaç çapı dijital kumpas ile ölçülmüştür.

Aşı noktası-ilk dallanma mesafesi (cm): Ağaçların aşı noktası ile gövdede ilk ana dalın olduğu nokta arasındaki mesafe metre ile ölçülmüştür.

İlk dallanma-üst sürgün ucu mesafesi (cm): Ağaçların gövdesinde ilk ana dalın olduğu yer ile ağaç tacının üst noktası arasındaki mesafe metre ile ölçülmüştür.

Aşı noktası-ana eksen ucu mesafesi (cm): Ağaçların aşı noktası ile ağaç tacının üst noktası arasındaki mesafe metre ile ölçülmüştür.

Verilerin Değerlendirilmesi

Denemeden elde edilen verilerin varyans analizi, "IBM SPSS Statistics 22" paket programında "T-testine" göre yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

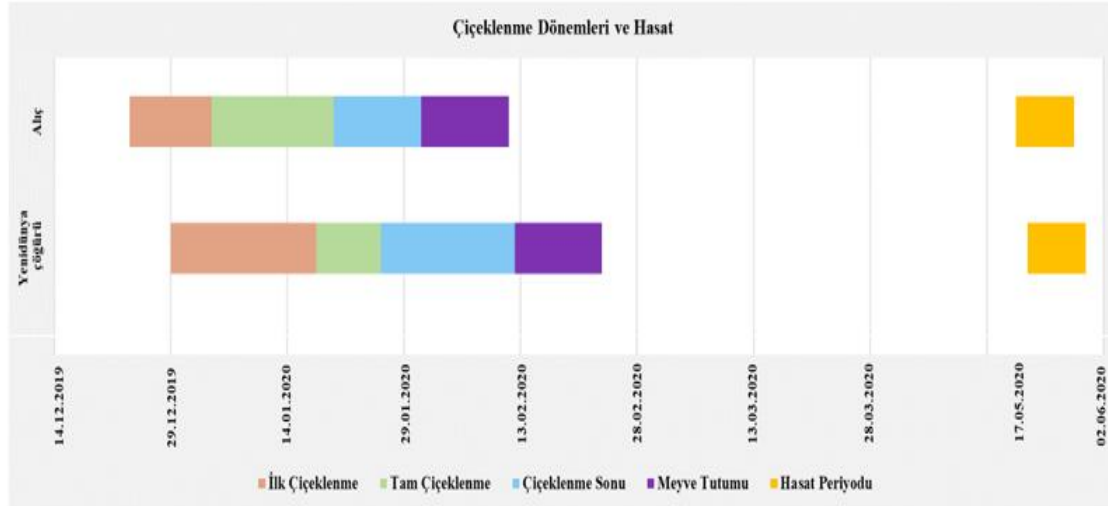
Çalışmada, anaçların HÇG yenidoğuşu çeşidinin fenolojik özellikleri, vejetatif büyümesi ve meyve tutumu üzerine etkilerine ilişkin elde edilen bulgular, aşağıda ayrı başlıklar altında incelenmiştir.

Fenolojik Gözlemler ile İlgili Bulgular

Çiçeklenme zamanları ile ilgili bulgular

Farklı anaçlar üzerine aşılı HÇG yenidoğuşu çeşidinin çiçeklenme ve meyve derim periyodları Şekil 2'de verilmiştir.

Çiçeklenme başlangıcı, alıç anacına aşılı bitkilerde, yenidoğuşu çöğür anacından 24 gün önce gerçekleşmiştir. Öteki tüm çiçeklenme dönemleri de alıç anacı üzerindeki bitkilerde, yenidoğuşu çöğür anacından 8-12 gün erken meydana gelmiştir. Alıç anacına aşılı olan bitkiler, yenidoğuşu anacına aşılı olanlara göre meyve tutumu evresine yaklaşık 15 gün önce ulaşırken, meyve deriminde iki gün erkencilik sağlamıştır. Literatürde alıç anacının yenidoğuşularda çiçeklenme evrelerine etkilerine ilişkin bir araştırmaya ulaşılabilmesi nedeniyle verilerimizin karşılaştırılması mümkün olamamıştır. Ancak konunun önemi açısından, bulgularımızın ayva anaçlarının bu konuya ilişkin bulguları ile karşılaştırılmasında yarar görülmüştür.



Şekil 2. Farklı anaçlar üzerine aşılı HÇG yenidünya çeşidinin çiçeklenme ve meyve derim periyotları.
Figure 2. Flowering and fruit harvesting periods of HÇG loquat cultivar grafted on different rootstocks.

Akkuş ve Polat'ın (2022) yaptığı bir çalışmada, Quince-A, Quince-C ve BA-29 anaçlarının çiçeklenme başlangıcı, ilk çiçeklenme, tam çiçeklenme ve çiçeklenme sonu evreleri sırasıyla, 21-23 Kasım, 11-15 Aralık, 10-18 Ocak ve 23-31 Ocak olarak belirlenmiştir. Polat'ın (2015), yaptığı bir çalışmada, yenidünya çöğür anacına aşılı HÇG yenidünya çeşidinde ilk çiçeklenme 27 Kasım, tam çiçeklenme 9 Aralık ve çiçeklenme sonu ise 24 Aralık olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, Akkuş ve Polat'ın (2022) ayva anaçları ile ilgili elde ettiği verilere benzerlik gösteren yanları olduğu gibi farklılık gösteren yanları da bulunmaktadır. Yenidünya çöğür anacı için elde ettiğimiz veriler ise Polat'ın (2015) elde ettiği verilerden farklı bulunmuştur. Bu farklılık, çalışmaların yapıldığı yıllardaki iklimsel verilerin farklı etkilerinden ve anaçların yaş farklılığından kaynaklanmış olabileceği üzere anaçların genetik yapılarının farklılığından da kaynaklanmış olabilir.

Salkım Özellikleri ile İlgili Bulgular

Anaçların, HÇG yenidünya çeşidinin çiçeklenme ve salkım özellikleri üzerine etkilerine ilişkin bulgular Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Anaçların HÇG yenidünya çeşidinin salkım özellikleri üzerine etkileri.

Table 1. The effects of rootstocks on the inflorescences properties of the HCG cultivar.

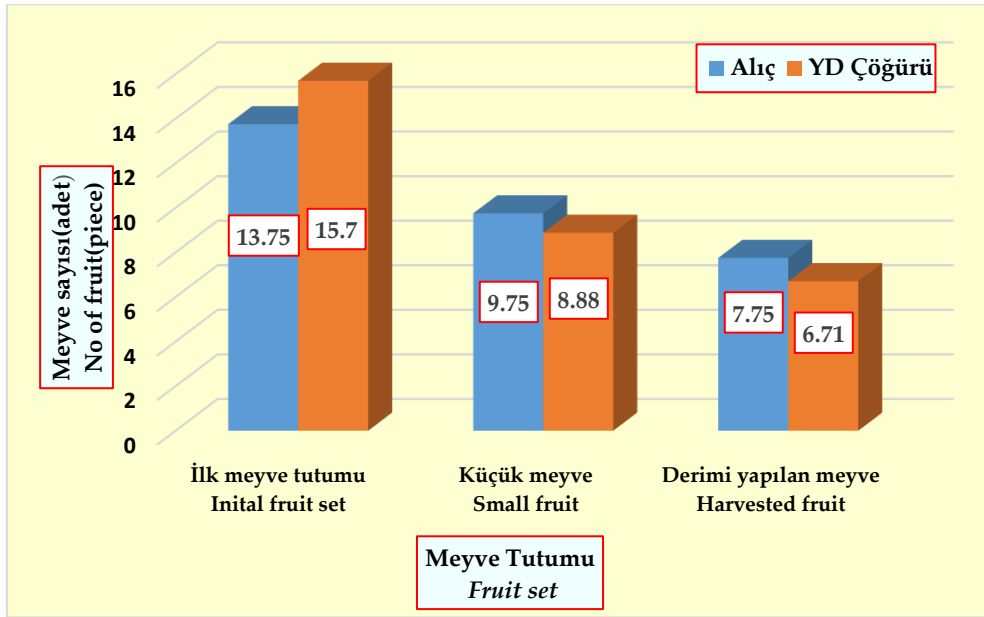
Anaçlar Rootstock	Salkım Uzunluğu Lenght of cluster (cm)	Salkımdaki somak sayısı(adet) No. of peduncle per cluster (piece)	Salkımdaki çiçek tomurcuğu sayısı(adet) No. of flower buds per cluster (piece)	Salkımdaki açan çiçek sayısı(adet) No. of flowers per cluster (piece)
Alıç Hawthorn	14.87±0.14	9.00± 0.31	123.25±1.10	115.25±1.38
YD çöğürü Loquat seedling	17.45± 0.18	10.28±0.54	156.88±12.47	139.59±11.01
Önemlilik ^x Significance ^x	**	ÖD ^y NS ^y	*	ÖD

^x: Anaç ortalamaları arasındaki farklılık "T" testine göre %5 veya %1 düzeyinde önemlidir.

^x: The difference between the rootstock averages is significant at the level of 5% or 1% according to the "T" test.

^y: Önemli değil. ^o:Not significance.

Gerek salkım uzunluğu gerek salkımın öteki özellikleri bakımından anacı yenidünya çöğürü olan bitkiler, alıç anacına aşılı bitkilere göre daha yüksek değerlere sahip olmuştur. Küçük meyve ve derimi yapılan meyve sayısı bakımından ise alıç anacına aşılı bitkiler, daha iyi sonuçlar vermiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Anaçların HÇG yenidoğuşya çeşidinin salkım başına ilk meyve, küçük meyve ve derimi yapılan meyve miktarına etkileri.

Figure 3. The effects of rootstocks on the amount of initial fruit, small fruit and harvested fruit per cluster of HÇG loquat variety.

İncelenen bu özelliklerden sadece salkım uzunluğu bakımından anaçlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çalışmamızın alıç anacına ilişkin bulgularından, ana salkımdaki somak sayısı, salkımdaki çiçek tomurcuğı ve açan çiçek sayıları ile ilk meyve tutumu değerleri, Akkuş ve Polat'ın (2022) ayva anaçlarında belirlediğı değerlerden daha düşük bulunurken, küçük meyve ve derimi yapılan meyve sayıları benzer bulunmuştur. Yenidoğuşya çöğür anacından elde edilen değerler, Akkuş ve Polat'ın (2022) üç ayva anacında belirlediğı değerler ile önemli ölçüde benzerlik göstermektedir.

Çiçeklenme ve Meyve Tutum Oranları ile İlgili Bulgular

Anaçların, HÇG yenidoğuşya çeşidinin çiçeklenme ve meyve tutum oranları üzerine etkileri ile ilgili istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Anaçların HÇG yenidoğuşya çeşidinin çiçeklenme ve meyve tutum oranları üzerine etkileri.

Table 2. The effects of rootstocks on blossoming and fruit set rates of HÇG loquat variety.

Anaçlar Rootstock	Çiçeklenme Blossoming(%)	Salkımdaki ilk meyve tutumu Initial fruit set (%)	Küçük Meyve Small fruit(%)	Derimi yapılan meyve Harvested fruits (%)
Alıç Hawthorn	93.52±1.07	11.16±0.29	7.91± 0.09	6.29±0.14
YD Çöğürü Loquat seedling	89.00±1.05	9.96± 0.13	5.63±0.20	4.24±0.23
Önemlilik ^x Significance ^x	*	**	**	**

^x: Aynı sütundaki ortalamalar "T" testine göre % 5 veya % 1 düzeyinde önemli farklılık göstermektedir.

^x: The difference between the rootstock averages is significant at the level of 5% or 1% according to the "T" test.

Anacı alıç olan bitkilerin çiçeklenme oranı (%93.52) anacı yenidoğuşya çöğürü (%89.00) olanlara göre daha yüksek olmuştur. Salkımdaki ilk meyve, küçük meyve ve derimi yapılan meyve oranları bakımından da anacı alıç olan bitkilerden (sırasıyla %11.16, %7.91 ve %6.29) daha yüksek değerler elde edilmiştir (Çizelge 2). İncelenen bu parametreler bakımından anaçlar arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur. Ancak bu veriler, alıç anacı ile ilgili elde edilen ilk veriler olduğundan bu aşamada genelleştirilmesinin uygun olmayacağı düşünülmektedir.

Çiçeklenme ve meyve tutum oranları bakımından alıç anacından elde ettiğimiz bulgular, Akkuş ve Polat'ın (2022) üç ayva klon anacında belirlediği değerlerden genellikle daha yüksek iken; yenidünya anacına ilişkin bulgular ise daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızda, alıç anacı üzerine aşılı HÇG yenidünya çeşidinde belirlenen çiçeklenme, ilk meyve tutumu, küçük meyve ve hasat edilen meyve oranları, Sezer ve Polat'ın (2022) ayva anaçlarında belirlediği oranlardan daha yüksek bulunmuştur.

Derimi yapılan meyve oranları göz önüne alındığında elde ettiğimiz veriler, alıç ve yenidünya çöğürü için %6.29 ve %4.24 olarak gerçekleşirken, Akkuş ve Polat'ın (2022) üç ayva klon anacında elde etmiş olduğu veriler, %2.12-%4.80 arasında gerçekleşmiştir. Sezer ve Polat (2022) ise aynı anaçlardaki bu değerleri, %2.96-%4.87 olarak belirlemiştir. Polat (2015), yenidünya çöğür anacı üzerine aşılı 15 yaşındaki HÇG yenidünya ağaçlarında çiçeklenme oranını %56.96, küçük meyve oranını %2.16 ve derimi yapılan meyve oranını %1.19 olarak belirlemiştir. Çalışmamızda yenidünya çöğür anacı üzerine aşılı 2 yaşındaki Hafif Çukurgöbek yenidünya bitkilerinde çiçeklenme oranı %89.00, küçük meyve oranı %5.63 ve derimi yapılan meyve oranı ise %4.24 olarak belirlenmiştir. Önceki çalışmaların bulguları ile olan bu farklılıkların, öncelikle çalışmaların yapıldığı yıllardaki iklimsel koşulların, kültürel bakım işlemlerinin farklılığı ile farklı araştırmalarda çalışılan deneme materyali bitkilerin yaş farklılığının etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Vejetatif Büyüme ile İlgili Bulgular

Anaçların, Hafif Çukurgöbek yenidünya çeşidinin vejetatif büyümesi üzerine etkilerine ilişkin veriler Çizelge 3' de verilmiştir.

Çizelge 3. Anaçların, HÇG yenidünya çeşidinin vejetatif büyüme parametreleri üzerine etkileri.

Table 3. The effects of rootstocks on vegetative growth parameters of the HCG loquat cultivar.

Anaçlar	Yıllık sürgün uzunluğu <i>Annual shoot length(cm)</i>	Kalem çapı <i>Scion diameter (mm)</i>	Anaç çapı <i>rootstock diameter (mm)</i>	Aşı noktası - İlk dallanma <i>Bud union-first branching (cm)</i>	İlk dallanma - Sürgün ucu <i>First branching-longest shoot (cm)</i>	Aşı noktası - Ana eksen ucu <i>Bud union-longest shoot (cm)</i>
Alıç <i>Hawthorn</i>	11.78±1.35	5.45± 0.39	15.36± 0.39	26.50± 0.89	39.95±5.91	66.45±6.06
YD çöğürü <i>Loquat seedling</i>	65.02±5.54	41.09±2.21	43.18±1.63	11.00± 1.85	148.30±12.96	159.30±14.10
Önemlilik ^x Significance ^x	**	**	**	**	**	**

^x:Aynı sütundaki ortalamalar "T" testine göre % 1 düzeyinde önemli farklılık göstermektedir.

The difference between the rootstock averages is significant at the level of 1% according to the "T" test.

Yenidünya çöğür anacı (65.02 cm) üzerindeki bitkiler, alıç anacına göre önemli ölçüde daha uzun sürgünler oluşturmuştur. Polat ve Çalışkan'ın (2011) yaptığı bir çalışmada, çöğür anacı üzerindeki ağaçların yıllık sürgün uzunluğu 23.1 cm bulunmuşken, Akkuş ve Polat'ın (2022) yaptığı çalışmada ise en düşük 39.64 cm (Quince-A) en yüksek 74.13 cm (BA-29) bulunmuştur. Ortaya çıkmış olan bu farklılıkların, yıllık bakım işlemleri ve meyve yükünün vejetatif büyümeyi baskılamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Anaç ve kalem çapı bakımından da yenidünya çöğür anacı, alıç anacına göre önemli düzeyde daha yüksek değerler vermiştir. İlk dallanma-sürgün ucu ve aşı noktası-ana eksen ucu arasındaki uzunluk değerleri bakımından da alıç anacından yenidünya çöğür anacına göre daha düşük değerler elde edilmiştir. İncelenen bütün parametreler bakımından anaçlar arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur. Bu durum, alıç anacının üzerine aşılı kalemin vejetatif büyümesini baskıladığı ve ayva anaçlarına benzer bodurlaştırıcı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen bu ilk verilere göre alıç anacının bodurlaştırıcı etkisi (yaklaşık %60), ayva anaçlarından çok daha belirgin olmaktadır. Nitekim, üç ayva klon anacına aşılı HÇG yenidoğuşya çeşidinde yapılan çalışmalarda (Akkuş ve Polat, 2022; Sezer ve Polat, 2022), incelenen tüm vejetatif parametreler bakımından ölçülen değerlerin çalışmamızda yer alan alıç anacında belirlediğimiz değerlerden daha yüksek olduğu görölmektedir. Ayrıca Quince-A, Quince-C ve yenidoğuşya çöğür anaçlarına aşılı farklı yenidoğuşya çeşitlerinde yapılan bazı çalışmalarda (Polat ve Kaşka 1992 a,b; Polat, 1995) da ayva anaçlarının, yenidoğuşya çöğür anacına göre %20-25 bodurluk sağladığı bildirilmiştir. Bu da alıç anacının çok daha etkili bir bodurluk sağladığını göstermektedir. Öte yandan, İran'da yapılan bazı çalışmalarda da alıç anacının, üzerine aşılı farklı ayva ve armut çeşitlerinde önemli düzeyde bodurluk sağladığı belirlenmiştir (Abdollahi vd., 2012; Ghasemi vd., 2013; Rahmati vd., 2015; Abdollahi vd., 2018; Tataria vd., 2020). Alıç anacının, üzerindeki kalemi bodurlaştırıcı etkisi, yenidoğuşyalarda sık dikim yetiştiricilik açısından büyük önem taşımakta ve alıcın yenidoğuşyalarda bodur anaç olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

SONUÇ

Bazı araştırmacılar yenidoğuşya için anaç olarak alıç kullanılabilceğini belirtmesine karşın, gerek ölkemizde gerek diğerk ölkelerde alıç anacının kullanımına ilişkin herhangi bir veri bulunmamaktadır. İlk kez bu çalışmada, alıç anacının, üzerine aşılı HÇG çeşidinin fenolojik özellikleri ile vejetatif büyümesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla alıç anacı, yenidoğuşya çöğür anacı ile kıyaslanmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulgular, alıç anacının yenidoğuşyalarda anaç olarak kullanımı açısından ilk bulgular olması bakımından oldukça önemli ve değerlidir. Çalışmamızın bulguları, anacı alıç olan bodur fidanlarla sık dikim yapılarak birim alandan daha fazla ürün alma olanaklarının mümkün olduğunu göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde; alıç anacının yenidoğuşya çöğür anacına göre daha üstün sonuçlar verdiği görölmektedir. Özellikle alıç anacının kalemin vejetatif büyümesini baskılayarak önemli bir bodurluk sağlaması dikkat çekici bulunmuştur. Henüz iki yaşındaki ağaçlarda görölen bu önemli bodurluk etkisinin, ileri yaşlarda çok daha yüksek değerlere ulaşacağı beklenmektedir. Ancak bu tür çalışmalarda daha kesin sonuçların elde edilebilmesi için çalışmaların bir süre daha devam ettirilmesi ve anacın meyve verim ve kalite özelliklerine etkilerinin de belirlenmesi gerekmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKISI

AAP çalışmayı tasarlayıp, denemeyi kurmuş ve bahçe gözlemlerini yaparak verileri toplamış ve makaleyi yazmıştır.

TEŞEKKÜR

Araştırmancın bahçe çalışmalarında yardımcı olan Zir.Yük.Müh.Uğur Sezer'e ve verilerin istatistiksel analizlerini yapan HMKÜ. Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü öğretim üyesi Doç.Dr. Sabri GÜL'e teşekkür ederim.

KAYNAKLAR


- Abdollahi, H., Atashkar, D., & Alizadeh, A. (2012). Comparison of the dwarfing effects of two hawthorn and quince rootstocks on several commercial pear cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 43(1), 53-63. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2012.24860>.
- Abdollahi, H., Mohammadi, M., Atashkar, D., & Alizadeh, A. (2018). Comparison of growth and yield of some commercial pear cultivars on two dwarf hawthorn (*Crataegus atrosanguinea*) and quince a rootstocks. *Seed and Plant Production*, 34(1), 1-21. <https://doi.org/10.22092/SPPJ.2018.118099>.
- Akkuş, S. (2020). *Bazı ayva anaçlarının sık dikilen Hafif Çukurgöbek yenidoğuşya çeşidinde vejetatif büyüme ve meyve kalitesi üzerine etkileri* [Yüksek Lisans Tezi]. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay.
- Akkuş, S., & Polat, A. A. (2022). Effect of some quince rootstocks on inflorescence properties, flowering and fruit set in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 25(2), 253-257. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoge.vi.910339>.

- Al-Junaidee, M. J. (1977). *Flora in Jordan and ecological distribution*. Ministry of Agriculture, Amman.
- Anonim, (2020). Meteoroloji Genel Müdürlüğü. <https://mgm.gov.tr/> (Erişim tarihi: 10.01.2021).
- Bolat, İ., & İkinci, A., (2019, Mart 8-10). *Meyvecilikte anaç kullanımı 1*. Uluslararası Harran Multidisipliner Çalışmalar Kongresi, Şanlıurfa, Türkiye.
- Davis, P. H. (1972). *Flora of Turkey and the east aegean islands*, v.4. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Demir, S., (1987). *Yenidünya Yetiştiriciliği*. T. C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Antalya Narenciye Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- Gerçekçioğlu, R., Bilginer, Ş., & Soylu, A. (2009). *Genel Meyvecilik*. Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti., Ankara, Türkiye.
- Gharaghani, A., Solhjoo, S., & Oraguzie, N., (2016). A review of genetic resources of pome fruits in Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63,151–172. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0334-3>
- Ghasemi, A., Rezaei, M., & Latifi Khah, E. (2013, May 9). *Study of adaptability and effect of 4 quince vegetative rootstock on yield vegetative Esfahan quince cultivar* [Paper presentation]. The 8th Iranian Congress of Horticultural Science, Hamadan, Iran.
- Jamil, J. M. A, Fakhraddin, M. H. S, & Ibrahim, M. N. (2012). Utilization of wild hawthorn rootstock for water harvesting under rainfed condition in Sulaimani governorate. *Tikrit University Journal for Humanities*, 19(5), 121-133. <https://www.iasj.net/iasj/article/46403>.
- Janick, J., (2011). Predictions for loquat improvement in the next decade. *Acta Horticulturae*, 887, 25-29. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.887.1>.
- Öz, F., Büyükyılmaz, M., & Burak, M. (1995). *Bodur Meyve Yetiştiriciliği*. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Yayınları, Yalova.
- Özbek, S. (1978). *Özel Meyvecilik*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 128, Adana, Türkiye.
- Polat, A. A., & Kaşka, N. (1992a). Quince-A'nın yenidünyalarda anaç olarak kullanılması üzerinde bir araştırma. *Doğa-Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 16, 745-755.
- Polat, A. A., & Kaşka, N. (1992b.) Quince-C anacına yapılan yenidünya aşlarında aşı başarısının saptanması. *Bahçe Dergisi*, 21(1-2), 9 –11.
- Polat, A.A. (1995). Quince-A anacının yenidünyalarda vejetatif büyüme üzerine etkileri. *Derim*, 12(2), 84-88.
- Polat, A. A., Durgaç, C., & Çalışkan, O. (2004). Effects of different planting space on the vegetative growth, yield and fruit quality of loquat. *Acta Horticulturae*, 632, 189-195. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.632.23>.
- Polat, A. A., Durgac, C., & Caliskan, O. (2005). Effect of protected cultivation on the precocity, yield and fruit quality in loquat. *Scientia Horticulturae*, 104, 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.08.010>.
- Polat, A. A., & Caliskan, O. (2011). Effects of planting densities on fruit quality and productivity of loquat. *Acta Horticulturae*, 887, 133-138. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.887.21>.
- Polat, A. A. (2015). Effect of canopy orientation on flowering time and fruit set in loquat. *Acta Horticulturae*, 1092, 205-210. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1092.30>.
- Polat, A. A. (2018, October 4-7). Effects of some Quince rootstocks on phenological properties and fruit set rates in Hafif Çukurgöbek loquat cultivar. *Proceeding of the 9th International Scientific Agriculture Symposium*, Jahorina, Bosnia and Herzegovina.
- Polat, A. A. (2020). Alıç anaçlarına yapılan yenidünya aşlarında aşı başarısının saptanması. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 10(1), 1-5. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/mjavl/issue/54531>.
- Polat, A.A. (2021a). Investigation on the usage of hawthorn (*Crataegus* spp) as rootstock for loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(1), 86- 91. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.774496>.
- Polat, A. A. (2021b). *Yenidünya Yetiştiriciliği*. Subtropik Meyveler Ders Notları (Yayınlanmamış). Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antakya, Hatay.
- Rahmati, M., Arzani, K., Yadollahi, A., & Abdollahi, H., (2015). Influence of Rootstock on Vegetative Growth and Graft Incompatibility in Some Pear (*Pyrus* Spp.) Cultivars. *Indo-American Journal of Agricultural and Veterinary Sciences*, 3(1), 25-32.
- Rom, R. C. I & Carlson, R. F. (1987). *Rootstocks for fruit crops*. John Wiley and Sons-Interscience Publication, New York, USA.
- Sezer, U., & Polat, A. A. (2022). Farklı Anaçların Hafif Çukurgöbek Yenidünya Çeşidinde Verim ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 8(3):376–390. <https://doi.org/10.24180/ijaws.1107932>.
- Tataria, M., Rezaeib, M., & Ghasemia, A. (2020). Quince Rootstocks Affect Some Vegetative and Generative Traits. *International Journal of Fruit Science*, 20(S2), S668–S682. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1764462>.
- Valipour, M., Khoshgoftarmansh, A. H., & Baninasab, B., (2018). Physiological responses of hawthorn (*Crataegus persica* Pojark.) and quince (*Cydonia oblonga* Mill.) rootstocks to bicarbonate-induced iron deficiency in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 181, 905-913. <https://doi.org/10.1002/jpln.201700576>.



Anatomical and Histological Development of the Union of Splice Grafting in Hazelnut*

Fındıkta Dilciksiz Aşı Tekniğinde Kaynaşmanın Anatomik ve Histolojik Gelişimi

Fikri Balta¹ 

Received: 13.03.2023

Accepted: 15.06.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: The anatomical and histological development of the graft union in splice grafting in hazelnut (*Corylus avellana* L.) was examined. One-year suckers were used as rootstock and scion materials. Grafting was done manually in the first week of December. The grafted plants were kept for 28 days at 26-28 °C and 70-80% relative humidity conditions. The cross and longitudinal sections with a thickness of 12-20 microns taken from the graft union area by a rotary microtome 14, 18, 21, 26, 32, 52 ve 140 days after grafting were examined microscopically. Early callus proliferation from rootstock and particularly scion two weeks after grafting was generally slow. The initial cambial differentiations in callus tissues were seen in sections 18 days after grafting. Cambial continuity between rootstock and scion was established 32 days after grafting. The sections in the following periods exhibited that the graft partners were in vascular relationship. The development of the graft union was successful with all its stages. It was observed that the amount of callus tissue proliferated during the first two weeks after grafting directed the subsequent development of the union. In this respect, it is thought that developing methods that encourage callus formation in the early periods of the union will increase the success in related studies. The anatomical and histological examinations revealed that rootstock and scion thicknesses that are very close to each other and accordingly well matching of graft partners from cambial zones affect the development of union positively and prepare a suitable basis for early vascular differentiation.

Keywords: Hazelnut, *Corylus avellana* L., Splice Grafting, Graft Union

&

Öz: Çalışmada fındıkta (*Corylus avellana* L.) dilciksiz aşılama tekniğinde aşı kaynaşmasının anatomik ve histolojik gelişimi incelenmiştir. Anaç ve kalem materyali olarak bir yıllık dip sürgünleri kullanılmıştır. Aralık ayının ilk haftasında yapılan aşılar 26-28 °C sıcaklık ve % 70-80 nisbi nem koşullarında 28 gün tutulmuştur. Aşılamadan 14, 18, 21, 26, 32, 52 ve 140 gün sonra aşı yerlerinden rotary mikrotomla 12-20 mikron kalınlığında alınan kesitler fotomikroskop altında incelenmiştir. Aşılamadan iki hafta sonraki kesitlerde anaç ve özellikle kalemde kallus oluşumunun yavaş gerçekleştiği görülmüştür. Kallus dokusunda ilk kambiyal farklılaşmalara aşılamadan 18 gün sonraki kesitlerde rastlanmıştır. Aşı elemanları arasında kambiyal devamlılık aşılamadan 32 gün sonra kurulmuştur. İlerleyen dönemlerdeki kesitlerde aşı parçalarının vasküler ilişki içerisinde oldukları belirlenmiştir. Kaynaşmanın gelişimi tüm aşamalarıyla başarıyla gerçekleşmiştir. Aşılama sonrası ilk iki haftalık dönemde oluşan kallus miktarının kaynaşmanın sonraki gelişimine yön verdiği belirlenmiştir. Bu bakımdan, ilgili araştırmalarda kaynaşmanın erken dönemlerinde kallus oluşumunu teşvik edici yöntemlerin geliştirilmesinin başarıyı yükselteceği düşünülmektedir. Anatomik ve histolojik incelemeler, birbirine çok yakın anaç ve kalem kalınlığının ve buna bağlı olarak aşı parçalarının kambiyal bölgelerden iyi karşılaştırılmasının kaynaşmanın seyrini olumlu etkilediğini ve erken vasküler farklılaşmalara zemin hazırladığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Fındık, *Corylus avellana* L., Dilciksiz aşı, Aşı kaynaşması

Cite as: Balta, F. (2023). Anatomical and histological development of the union of splice grafting in hazelnut. International Journal of Agriculture and Wildlife Science. 9 (2), 122-134. doi: 10.24180/ijaws.1264607

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Prof. Dr. Fikri Balta, Ordu University, Department of Horticulture, baltaf04@yahoo.com

* This study is produced from a part of the PhD thesis of the author.

INTRODUCTION

Grafting provides many advantages such as benefiting from the characteristics of various rootstocks, changing varieties, encouraging early fruiting, increasing productivity, obtaining quality fruit, and large-scale propagation of fruit species that cannot be serially propagated by other vegetative methods (Hartmann and Kester, 1974; Goldschmidt, 2014; Adhikari et al., 2022). Therefore, it has an important place in horticulture (Melnyk, 2016).

Grafting is a plant's response to injury related to its ability to regenerate (Moore, 1981; Melnyk, 2016). This response varies over time during the year under uncontrolled conditions (Adhikari et al., 2022). In grafting, after the cut parts of the rootstock and scion contact each other (adhesion), cell divisions occur and then the vascular tissues differentiate and the two plant parts turn into a single plant (Melnyk & Meyerowitz, 2015).

In grafting, well matching of rootstock and scion and the close thickness of the graft partners affect the success and development of the union positively (Tekintaş, 1988). This detail is especially important for nut species such as hazelnuts, which have been reported to have difficulties in propagation by grafting (Lagerstedt, 1981). At the graft union, callus formation from rootstock and scion, establishment of the callus bridge at the graft interfaces, cambial differentiation, cambial continuity, establishment of the vascular system can be affected by species, cultivar, rootstock, grafting technique, grafting time, and environmental conditions during and after grafting (Farsi et al., 2016).

During the graft union, anatomical, physiological, biochemical and molecular changes occur in the plant that may affect important horticultural characteristics (Goldschmidt, 2014; Habibi et al., 2022). Knowing the anatomical and histological development of the union in grafting studies can offer some important insights not only for the formation of successful grafting combinations and the selection of the grafting technique (Tekintaş, 1988; Farsi et al., 2016), but also for transferring the grafted plant to the appropriate conditions at the right time. Indeed, early establishment of the union in grapevine grafts reduced post-transplant losses of grafted plants (Cangi et al., 2000). Various anatomical and histological studies on the graft union have been reported in many fruit species (Ünal and Özçağran, 1986; Asante and Barnett, 1997; Tekintaş, 1988; Watanabe & Nakazatomi, 1990; Polat and Kaşka, 1992; Seferoğlu et al., 2004; Serdar et al., 2005; Demirsoy and Bilginer, 2006; Dolgun et al., 2008; Polat et al., 2010; Kalkışım and Tekintaş, 2011; Farsi et al., 2016; Özdemir et al., 2019).

Today's modern hazelnut culture foresees the cultivation of hazelnut plant in the form of a single-trunk tree suitable for mechanization (Bijelić et al., 2021). In this respect, although the efforts on hazelnut grafting have gained importance, studies on the subject in our country are very limited. In this study, it was aimed to examine the anatomical and histological aspects of the development of the graft union in splice grafting technique depending on time in hazelnut, and the issues that may affect the development of union were emphasized.

MATERIAL AND METHOD

The research was carried out at Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture. As rootstock and scion material, one-year suckers (*Corylus avellana* L.) obtained from hazelnut grower's orchards in Karaca neighborhood of Çarşamba district of Samsun were used. One-year suckers were brought from Samsun to Van in mid-November in sacks containing moist sawdust. They were kept at room conditions until grafting. The scions were prepared with 2-3 buds from suckers. Grafting was done manually on one-year suckers using the splice technique (Figure 1) in the first week of December. The grafted plants were kept under controlled conditions at 26-28 °C and 70-80% relative humidity for 28 days. They were transferred to a room with a temperature of 16-20 °C and a relative humidity of 80-90% and surrounded by PVC plastic. When the outside weather conditions are suitable, they were moved to the greenhouse and left to develop.



Figure 1. Splice grafting of hazelnut.

Şekil 1. Diliksiz fındık aşısı.

Preparation of graft site samples

In order to examine the anatomical and histological development of the union, the graft sites of the grafted plants were cut by grafting scissor 14, 18, 21, 26, 32, 52 and 140 days after grafting and kept in 70% ethanol until paraffin method. As a preliminary preparation for the paraffin method, the parts of the graft sites were cut into small pieces with the help of a razor blade.

These small pieces were treated with a series of solutions (Table 1). Hard paraffin, equal to 1/3 of the amount of xylol, was added to the containers in which the samples were contained, and they were kept in unheated room conditions for 1 day. Then, small pieces of the graft sites were saturated with paraffin in an oven at 62-63 °C for 2-3 months.

Table 1. Treatments for small pieces of graft site samples.

Çizelge 1. Aşısı yeri örnek parçalarına uygulanan işlemler.

Order	Treatment	Duration (hour)
1	80% ethyl alcohol	6
2	90% ethyl alcohol	16
3	Pure alcohol	1
4	3 volumes of pure alcohol + 1 volume of xylol	2
5	2 volumes of pure alcohol + 2 volume of xylol	2
6	1 volumes of pure alcohol + 3 volume of xylol	2
7	Xylol	2

Sectioning and Staining

Paraffin-saturated pieces were carefully embedded in blocks for sectioning. These blocks were then placed in the rotary microtome. Cross and longitudinal sections with a thickness of 12-20 microns were taken with a rotary microtome and permanent preparations were prepared. Sections were stained in three ways: safranin/fast green double staining, safranin and fast green. In the staining process, it was aimed to clearly distinguish the tissues in the sections under photomicroscope. Treatments for safranin/fast green double staining are given in Table 2. In staining with fast green, the treatments other than the 8th, 9th, 10th, 11th and 12th orders, and the treatments other than the 13th order in staining with safranin were followed (Table 2).

Table 2. Safranin/Fast green double staining.*Çizelge 2. Safranin/Fast Green ikili boyama işlem aşamaları.*

Order	Treatments	Duration
1	3 volume of xylol + 1 volumes of pure alcohol	10 min.
2	2 volume of xylol + 2 volumes of pure alcohol	10 min.
3	1 volume of xylol + 3 volumes of pure alcohol	10 min.
4	Pure alcohol	1 min.
5	90% ethyl alcohol	4 min.
6	80% ethyl alcohol	4 min.
7	70% ethyl alcohol	4 min.
8	% 1 safranin	30-45 min.
9	Washing with tap water	1.5 min.
10	% 0.5 picric acid	1-2 min.
11	96% ethanol with a few drops of ammonia	1-2 min.
12	96% ethyl alcohol	10 sec.
13	% 1 fast green	10 sec.
14	1 volume of xylol + 1 volumes of pure alcohol	15-20 sec.
15	Pure alcohol with a few drops of xylol	2-3 sec.
16	Release in xylol followed by coating with Canadian balsam	

Examination of Sections

Cross and longitudinal sections taken from the graft union sites were examined and photographed under a photomicroscope (Olympus BH-2). At the union sites, the state of callus tissues formed by rootstock and scion, the state of necrotic layers, the union of rootstock and scion, cambial differentiation, establishment of cambial continuity between rootstock and scion, and the formation of new vascular tissues on the sections were examined and evaluated.

RESULTS

In the cross-sections 14 days after grafting, callus proliferation at the graft union site was satisfactory in some of the graft samples (Figure 2) and generally weak in others. Callus proliferation in the upper and lower parts of the union site was more than in the middle parts. Thin-membrane and high turgor callus cells were produced from cambium, young xylem and phloem tissues of rootstock and scion that were not destroyed during grafting. Although callus tissue extended uninterruptedly in the upper, lower and middle parts of the graft site, it has not fully expanded between the graft interfaces. Therefore, it was generally considered weak at this stage. It was observed that the necrotic layers were largely broken by the callus tissue. Initial cambial cell differentiations were not observed within the callus tissue at the graft union site.

Cross-sections of successful graft samples 18 days after grafting showed more callus proliferation. The callus formation has expanded towards the junction surfaces between the xylem tissues of the graft partners, but has not completely filled all graft interfaces. In successful graft samples where rootstock and scion thicknesses are very close to each other, the initial cambial differentiations and extensions were seen at the graft union site. The cambial differentiation, which is almost in line with the original cambium of the rootstock and scion within the callus tissue, expanded towards the inner parts and turned into a cambial extension (Figure 3). However, although the cambial extensions that developed separately from both the rootstock and the scion were in contact with the original cambium tissues of the graft partners, they could not yet unite with each other in the callus tissue formed towards the graft interfaces. Therefore, cambial continuity was not established between the graft partners in this period.

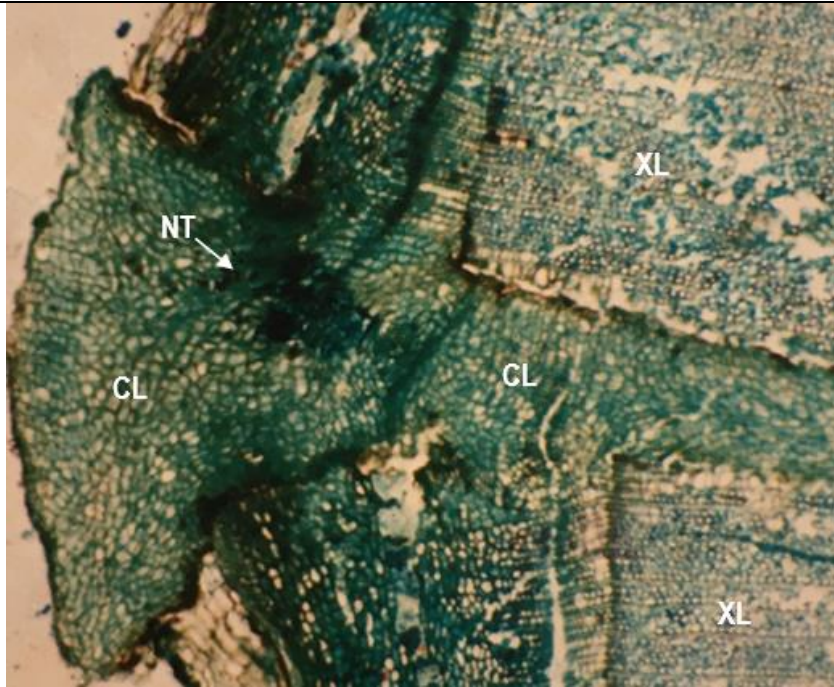


Figure 2. The appearance of the tissues in a cross-section of the union site 14 days after grafting. CL: Callus, NT: Necrotic layer, XL: Xylem (Safranin/Fast green, 4x10).

Şekil 2. Aşılamadan 14 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NT: Nekrotik tabaka, XL: Ksilem (Safranin/Fast Green, 4x10).

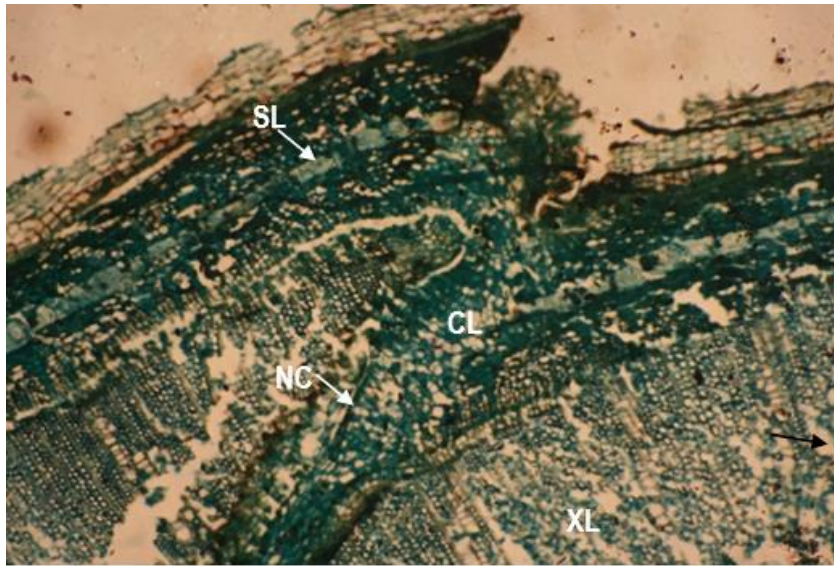


Figure 3. The appearance of the tissues in a cross-section of the union site 18 days after grafting. CL: Callus, NC: New cambium, SL: Sclerenchymatic fiber cells, XL: Xylem (Safranin/Fast green, 4x10).

Şekil 3. Aşılamadan 18 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NC: Yeni Kambiyum, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, XL: Ksilem (Safranin/Fast green, 4x10).

Cambial differentiations and extensions in the callus tissue continued progressively in the cross-sections 21 days after grafting. The new cambial extensions of the rootstock and scion, which connect with the original cambium of the graft partners, have not yet connected with each other in the callus tissue formed towards the inner surfaces. Therefore, cambial continuity between rootstock and scion has not yet been established in the graft samples of this period. However, while it was observed that new xylem tissues

were produced from new cambium tissues in places, sclerenchymatic cell groups were seen in the callus tissue (Figure 4). It was evaluated that the necrotic layers did not pose a problem in terms of the development of union.

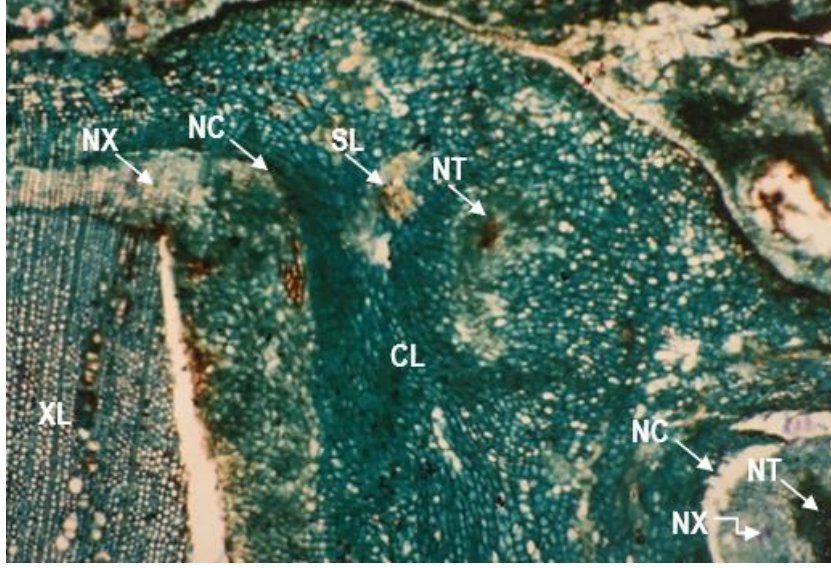


Figure 4. The appearance of the tissues in a cross-section of the union site 21 days after grafting. CL: Callus, NC: New Cambium, NX: New Xylem, NT: Necrotic layer, SL: Sclerenchymatic fiber cells (Safranin/Fast green, 4x10).

Şekil 4. Aşılamaadan 21 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NC: Yeni Kambiyum, NX: Yeni Ksilem, NT: Nekrotik tabaka, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, (Safranin/Fast green, 4x10).

Although callus formation at the graft site was satisfactory in cross-sections of successful graft samples 26 days after grafting, callus tissue did not completely fill all interfaces of the union in most of the graft samples. The cambial continuity was established between rootstock and scion. It was observed that cambial continuities were established as slightly or sharply curved in the graft partners. Differentiated new xylem elements were seen on the rootstock and scion sides (Figure 5). Callus cells formed more uniform shapes and rows at the union sites. Necrotic layers were generally well fragmented.

In cross-sections 32 days after grafting, not all cut surfaces between graft partners were fully filled with callus tissue. In successful graft samples, cambial continuity was established between graft partners (Figure 6). In the longitudinal sections, the new vascular cambium tissue extended uninterruptedly within the callus tissue proliferated by rootstock and scion (Figure 7). In this period, after cambial continuity, it was observed that new vascular tissues were produced in places at the graft union site.

In the cross-sections 40 days (Figure 8) and 52 days (Figure 9) after grafting, vascular differentiations continued within the callus tissue, more new xylem elements were produced by especially rootstock. Callus cells were located in the union zone, adjacent to the newly formed vascular tissues and forming regular rows. In some graft samples, cambial continuity was curved towards the middle part of the union (Figure 9). Necrotic areas were seen in places adjacent to cambial differentiations. The establishment of cambial continuity was affected by these areas. Cambial continuity is shaped like a straight line in some samples, and curved in some samples by narrowing and expanding in places. Thus, the extension pattern of the new vascular cambium also affected the positions of the newly formed vascular tissues. Sclerenchymatic cell groups were encountered in the callus tissue (Figure 8).

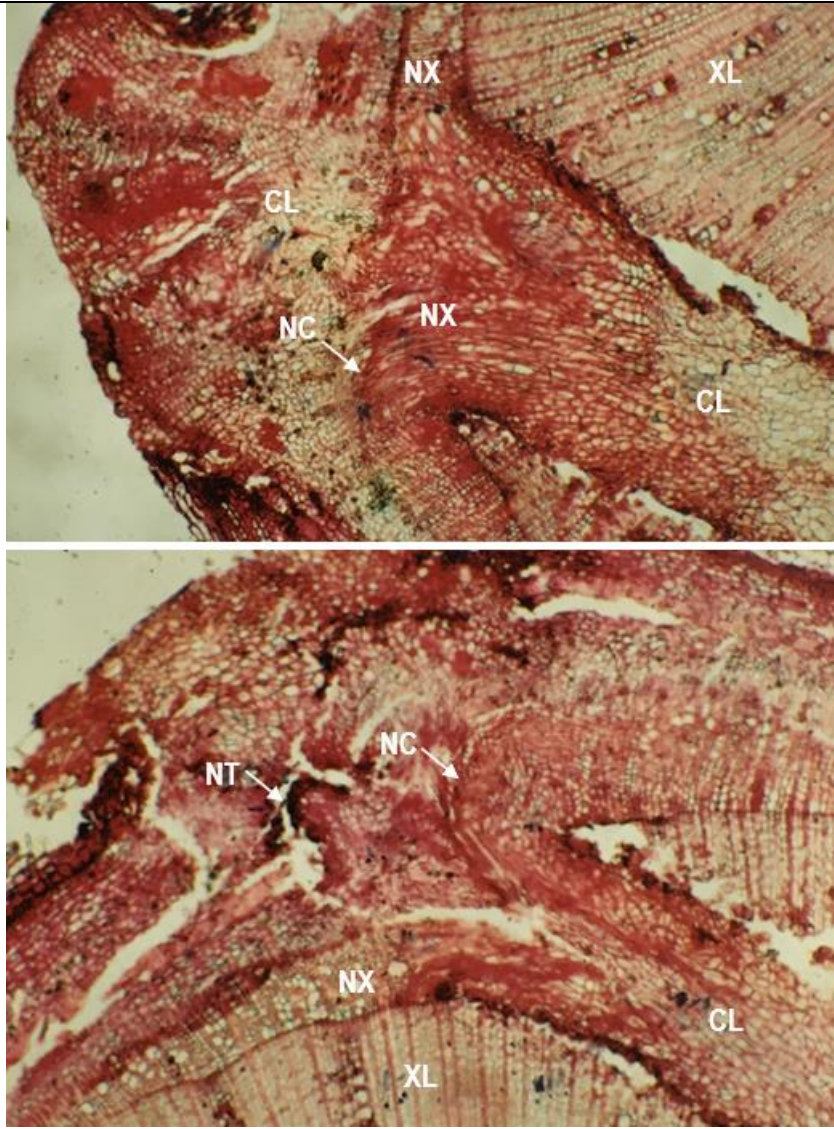


Figure 5. The appearance of the tissues in a cross-section of the union site 26 days after grafting. CL: Callus, NT: Necrotic layer, NC: New Cambium, NX: New Xylem, XL: Xylem (Safranin, 4x10).
 Şekil 5. Aşılamaadan 26 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NT: Nekrotik tabaka, NC: Yeni Kambiyum, NX: Yeni Ksilem, XL: Ksilem (Safranin, 4x10).

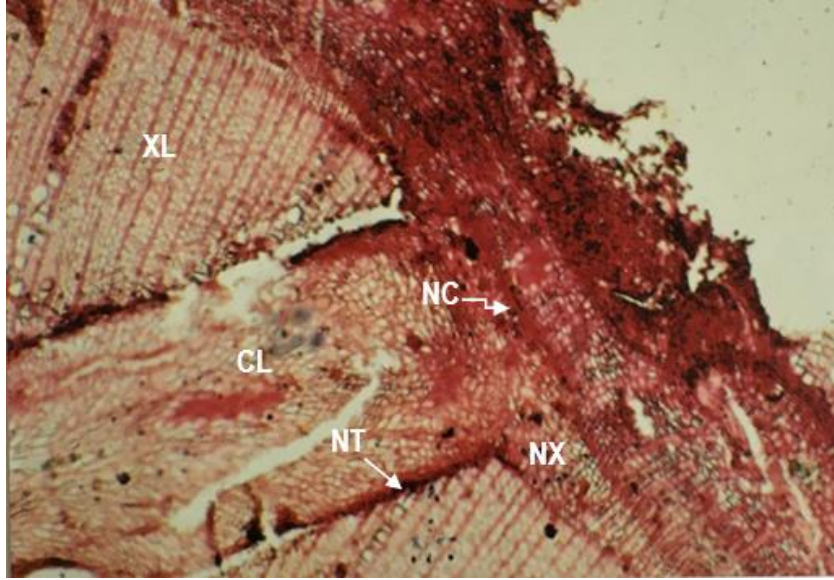


Figure 6. The appearance of the tissues in a cross-section of the union site 32 days after grafting. CL: Callus, XL: Xylem, NT: Necrotic layer, NC: New Cambium, NX: New Xylem (Safranin, 4x10).

Şekil 6. Aşılamadan 32 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NT: Nekrotik tabaka, NC: Yeni Kambiyum, NX: Yeni Ksilem, XL: Ksilem (Safranin, 4x10).

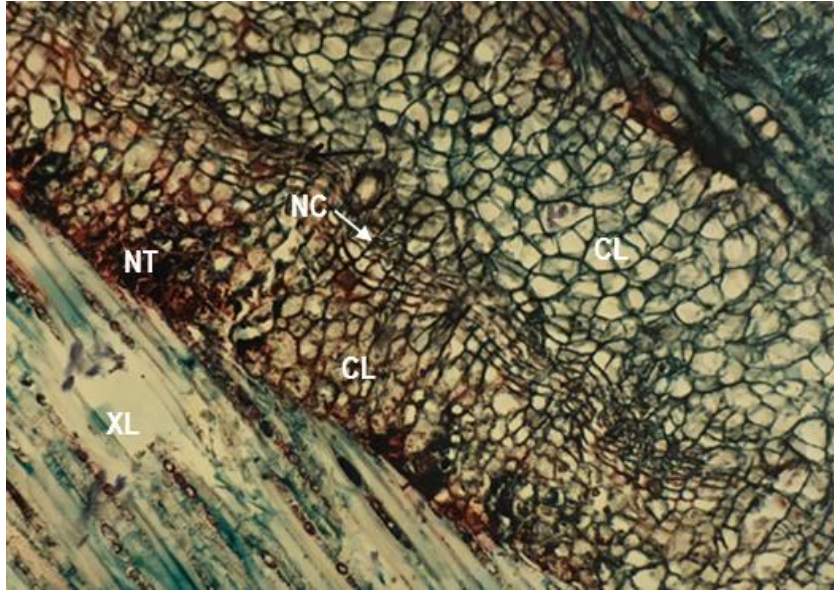


Figure 7. The appearance of the tissues in a longitudinal section of the union site 32 days after grafting. CL: Callus, NT: Necrotic layer, NC: New Cambium, XL: Xylem (Safranin/Fast green, 10x10).

Şekil 7. Aşılamadan 32 gün sonra aşı bölgesinden alınan boyuna kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NC: Yeni Kambiyum, NT: Nekrotik tabaka, XL: Ksilem (Safranin/Fast green, 10x10).

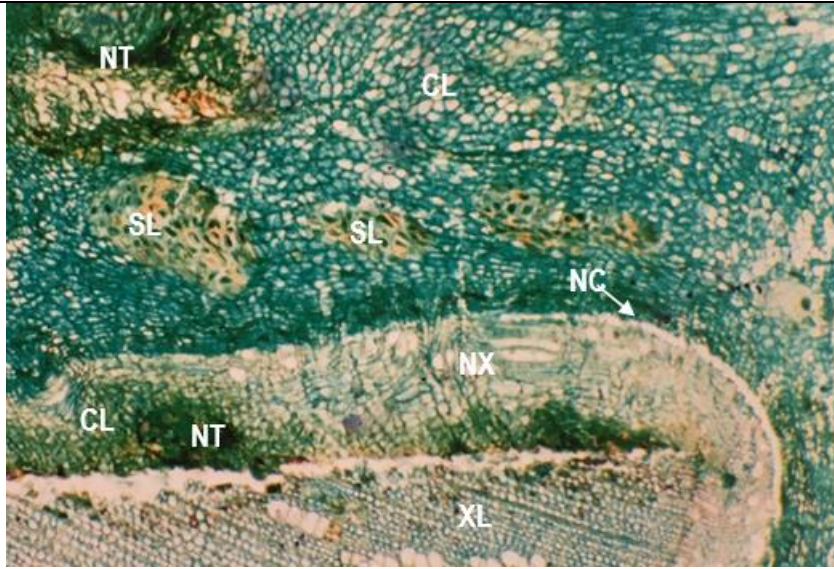


Figure 8. Tissue differentiation within the callus in a cross-section of the union site 40 days after grafting. CL: Callus, NC: New Cambium, NT: Necrotic layer, SL: Sclerenchymatic fiber cells, NX: New Xylem, XL: Xylem (Fast green, 4x10).

Şekil 8. Aşılamadan 40 gün sonraki enine kesitte kallus içindeki doku farklılaşmaları. CL: Kallus, NC: Yeni Kambiyum, NT: Nekrotik tabaka, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, NX: Yeni Ksilem, XL: Ksilem (Fast green, 4x10).

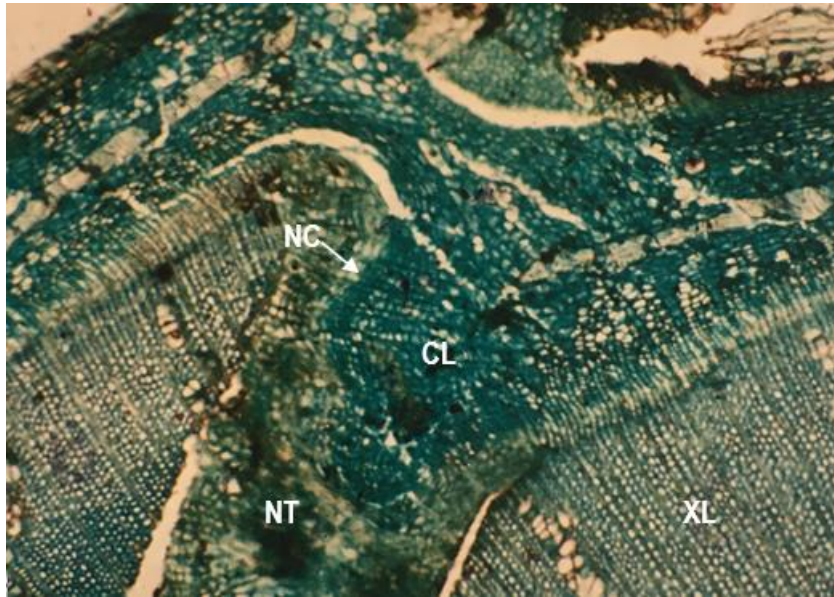


Figure 9. The appearance of the tissues in a cross-section of the union site 52 days after grafting. CL: Callus, NC: New Cambium, NT: Necrotic layer, XL: Xylem (Safranin/fast green, 4x10).

Şekil 9. Aşılamadan 52 gün sonra aşılma bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NC: Yeni Kambiyum, NT: Nekrotik tabaka, XL: Ksilem (Safranin/Fast green, 4x10).

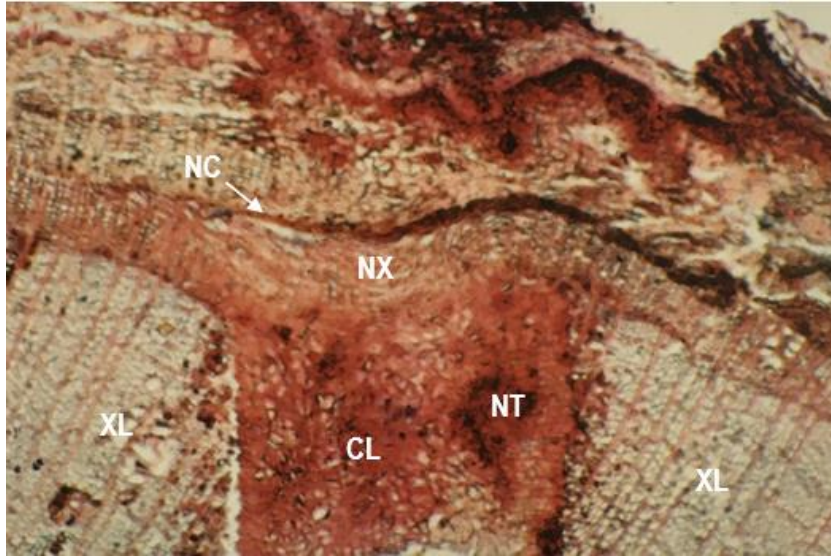


Figure 10. Appearance of the tissues in a cross-section of the union site 140 days after grafting. CL: Callus, NC: New Cambium, NT: Necrotic layer, XL: Xylem (Safranin, 4x10).

Şekil 10. Aşılamadan 140 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. CL: Kallus, NC: Yeni Kambiyum, NT: Nekrotik tabaka, NX: Yeni Ksilem, XL: Ksilem (Safranin, 4x10).

140 days after grafting, it was observed in the cross-sections of the graft samples that shoot development continued, that the graft partners were in vascular relationship with each other (Figure 10) and the union progressed successfully. Callus cells forming regular rows are located in the union site as parenchymatic cells. Necrotic layers were present in different parts of the union as fragmented and absorbed. On the other hand, sections from unsuccessful graft samples were also examined, and the failing aspects of union were evaluated. The development of union was not interrupted in successful grafts where the rootstock-scion thickness was close to each other and well matched from the cambial zones. However, in unsuccessful grafts where the rootstock and scion did not match well, the graft partners could not establish cambial and vascular relationships with each other because their cambial regions were far from each other.

DISCUSSION

The scientific knowledge about the mechanisms underlying graft union in plants is limited (Moore, 1984; Goldschmidt, 2014). As a result of the re-establishment of vascular connections between graft partners, long-distance signal transmission between tissues is ensured, cell-to-cell communication is largely mediated by plasmodesmata channels in the cell wall, which symplastically connect adjacent cells, and thus rootstock and scion cells form symplastic connections (Pina et al., 2012; Kurotani and Notaguchi, 2021; Amsbury, 2022).

Adhesion of graft partners, callus formation, establishment of callus bridge, cambial differentiations within the callus tissue, cambial continuity, production of new vascular tissues from the new cambium, and establishment of a functional vascular system at the graft site constitute the stages of the graft union (Hartmann and Kester, 1974; Goldschmidt, 2014). Grafting success and the graft union can be affected by many factors such as mechanical mismatches of rootstock and scion, desiccation of the tissues, adverse environmental conditions, failure of callus initiation, failure of adequate vascular differentiation, or physiological rejection between the tissues (Farsi ve ark., 2016).

In the first stage of graft union, callus tissue is mutually formed after the adhesion of rootstock and scion. Adequate callus formation at the graft union site in the early period and the establishment of callus bridge between the graft partners are necessary for the success of the graft. Because, in the later stages of union, the differentiation of the new cambium tissue and the establishment of cambial and vascular continuity between graft partners are realized through the callus tissue.

Callus tissue also plays a role in the disappearance of necrotic layers formed as a result of injury at the graft interfaces. In this study, callus formation at the graft interfaces was generally slow in the first 2 weeks after grafting. The callus tissue did not fill all the interfaces in many graft samples, even in the later stages of union. Necrotic layers were better disappeared in graft samples with sufficient callus. It has been determined that the amount of callus tissue formed in the early stages after grafting directed the development of union, and is effective on the disappearance of necrotic layers. Similar anatomical observations were reported by Şenyurt (2017), who examined the development of union in hazelnut cultivars grafted on *Corylus colurna* L. rootstock. It has been reported that callus formation occurs more slowly in hazelnuts during the graft union compared to fruit species such as apple and pear, and regular high temperatures are required for callus formation (Lagerstedt, 1981; Lagerstedt, 1984). Farsi et al. (2016) reported that intensive necrotic layers and weak callus formation at the graft site caused the failure and reduced the survival percentage of plants after transplanting. In this respect, it is thought that the development of methods that encourage callus formation in hazelnut grafting efforts will increase the grafting success.

The second stage of graft union is cambial differentiation within the callus tissue (Mahunu et al., 2012). In related studies, different findings have been reported on the initiation of the first cambial differentiations in the callus tissue after grafting. Farsi et al. (2016) reported that first cambial cell differentiation in callus tissue occurred 14 days after grafting in walnut grafts. Kurt and Tekintaş (2020) observed it 30 days after grafting in *Pinus pinea* L. grafts. It was observed 21 days after grafting in Erciş and Hafızali grape varieties grafted on 5BB rootstock (Cangi et al., 2000). In this study, the first cambial differentiations in callus tissue were seen in sections taken 18 days after grafting.

Establishment of cambial continuity following cambial differentiations is essential for the production of vascular tissues at the graft union site and ultimately for successful completion of union (Mahunu et al., 2012). The establishment time of cambial continuity on the callus bridge between rootstock and scion may vary according to graft combinations, grafting techniques and various applications. Establishment time of cambial continuity between graft partners after grafting were reported to be 3 weeks in pistachio grafts (Okay and Büyükkartal, 2001), 24 days in chip budding and 40 days for patch budding in walnut (Tekintaş, 1988), 25-35 days for omega grafts in walnut (Balta et al., 1996a), 45 days in citrus grafting combinations (Tekintaş, 1991), 45 days in chestnut grafts (Balta et al., 1993), 22-30 days for İskenderiye Misketi grape variety grafted on *Rupestris du Lot* rootstock (Balta et al., 1996b), 35-42 days Erciş and Hafızali grape varieties grafted on 5BB rootstock (Cangi et al., 2000), 30 days minigrafting of walnut (Farsi et al., 2016), 4 weeks in hazelnut patch budding on *Corylus colurna* L. seedling rootstocks (Şenyurt, 2017), 90 days in *Pinus pinea* L. grafts (Kurt and Tekintaş, 2020) and 100 days in loquat (*Eriobotrya japonica* L.) grafts (Polat and Kaşka, 1992). In this study, cambial continuity between graft partners was established 32 days after grafting. It took shape at the graft union site according to the matching position of rootstock and scion and the density of necrotic areas.

Establishment of vascular tissue connections in graft union constitutes the last stage (Mahunu et al., 2012). Post-grafting vascular tissue connection in higher plants is usually established 6 to 8 weeks after grafting (Moore, 1981). At the graft union site, new vascular tissues are produced by the new cambium tissue. In this study, graft partners were in vascular connection and relationship in sections taken 52 days after grafting and in the following periods. The necrotic layers did not completely disappear in the later periods of union, but were absorbed in particles in various parts of the graft union site. Similar observations on necrotic layers were also reported by many researchers such as Ünal and Özçağırın (1986), Tekintaş (1988), and Polat and Kaşka (1992).

CONCLUSION

As a result, the development of the graft union was successful in all stages of the graft samples that developed sufficient callus tissue in the first 2 weeks after grafting. Early callus proliferation from rootstock and particularly scion two weeks after grafting was generally slow. The initial cambial differentiations in callus tissues were seen in sections 18 days after grafting. Cambial continuity between rootstock and scion

was established 32 days after grafting. The sections in the following periods exhibited that the graft partners were in vascular relationship. It was observed that the amount of callus tissue proliferated during the first two weeks after grafting directed the subsequent development of the union. In this respect, it is thought that developing methods that encourage callus formation in the early periods of the union will increase the success in related studies. By using rootstock and scion with very close thicknesses, well matching of graft partners from cambial zones affected the development of union positively and prepared a suitable basis for early vascular differentiation.

CONFLICT OF INTEREST

The author declare that he has no conflict of interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

F.B: Conducting the research and writing the results were done by the author.

REFERENCES


- Adhikari, P.B., Xu, Q., & Notaguchi, M. (2022). Compatible graft establishment in fruit trees and its potential markers. *Agronomy*, 12, 1981. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081981>.
- Amsbury, S. (2022). Making a connection: cell–cell communication at the graft interface. *Plant Physiology*, 188, 19–21. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab516>.
- Asante, A.K., & Barnett, J. R. (1997). Graft union formation in mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Horticultural Science*, 72, 781-90. <https://doi.org/10.1080/14620316.1997.11515571>.
- Balta, F., Karadeniz, T., Tekintaş, F. E., & Şen, S. M. (1993, October 20-23). *Investigations on anatomical and histological development of the graft formation in chestnut (Castanea sativa)*. 1st Int. Congress on chestnut, Spoleto, Italy.
- Balta, F., Kazankaya, A., & Tekintaş, F. E. (1996a, Ocak 10-11). *Kontrollu aşılama koşullarında bekletilen omega ceviz aşılarında aktarma öncesi anatomik ve histolojik gözlemler*. Fındık ve Diğer Sert Kabuklu Meyveler Sempozyumu, Türkiye.
- Balta, F., Cangi, R., Doğan, A. & Karadeniz, T. (1996b). Rupestris Du Lot anacına aşılı iskenderiye misketi üzüm çeşidinde aşı kaynaşmasının gelişimi üzerine anatomik ve histolojik incelemeler. *Van Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6(2), 201-208.
- Bijelić, S., Magazin, N., Džankić, S., Janković, D., Bogdanović, B. & Jaćimović, G. (2021). Advances in nursery production of hazelnut plants in Serbia – Successful grafting of different *Corylus avellana* L. cultivars and clones onto *Corylus colurna* L. rootstock. *Frontiers in Plant Science*, 12, 785015. doi: 10.3389/fpls.2021.785015.
- Cangi, R., Balta, F., & Doğan, A. (2000). Aşılı asma fidanı üretiminde kullanılan katlama ortamlarının fidan randıman ve kalitesi üzerine etkilerinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24, 393-398.
- Demirsoy, H., & Bilgener, Ş. (2006). Bazı uyuşur ve uyuşmaz şeftali/erik aşı kombinasyonlarında aşı yerinin anatomik olarak incelenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(1), 89-94.
- Dolgun, O., Tekintaş, F. E., & Ertan, E. (2008). A histological investigation on graft formation of some nectarine cultivars grafted on pixy rootstock. *World J. Agricultural Sciences*, 4 (5): 565-568.
- Farsi, M., Fatahimoghdam, M. R., Zamani, Z., Hassani, D., & Ahmadi, A. (2016). The histology of minigrafting of Persian walnut trees cv. chandler. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 3(2), 167-177. <https://doi: 10.22059/ijhst.2016.62916>.
- Goldschmidt, E. E. (2014). Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science*, 5, 727. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00727>.
- Habibi, F., Liu, T., Folta, K., & Sarkhosh, A. (2022). Physiological, biochemical, and molecular aspects of grafting in fruit trees. *Horticulture Research*, 9, uhac032. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac032>.
- Hartmann, H. T. & Kester, D. E. (1974). Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği (Çevirenler: Kaska, N. & Yılmaz, M.). Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 79, Adana.
- Kalkışım, Ö., & Tekintaş F. E. (2011). Kızılcıkta (*Cornus mas* L.) aşı kaynaşması ile çelik köklenmesinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine bir araştırma. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 106-122.
- Kurotani, K. I., & Notaguchi, M. (2021). Cell-to-cell connection in plant grafting—molecular insights into symplasmic reconstruction. *Plant and Cell Physiology*, 62(9), 1362-1371. <http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pcab109>.

- Kurt, H., & Tekintaş, F. E. (2020). Fıstık çamında (*Pinus pinea* L.) aşı kaynaşması ve çelik köklenmesinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 7(13), 135-148. doi.org/10.38065/euroasiaorg.422.
- Lagerstedt, H. B. (1981). A new device for hot-callusing graft unions fruit and nut trees. *Hortscience*, 16(4), 529-530. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.16.4.529.
- Lagerstedt, H. B. (1984). Hot-callusing pipe speeds up grafting. *American Nurseryman*, 160, 113-117.
- Mahunu, G. K., Adjei, P.Y., & Asante, A. K. (2012). Anatomical studies on graft formation in cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Agriculture and Biology Journal of North America*, 3(4), 150-153. doi:10.5251/abjna.2012.3.4.150.153.
- Moore, R. (1981). Graft compatibility and incompatibility in higher plants. *Developmental & Comparative Immunology*, 5(3), 377-389. https://doi.org/10.1016/S0145-305X(81)80051-1
- Moore, R. (1984). A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. *American Journal of Botany*, 71(5), 752-758. https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1984.tb14182.x.
- Melnyk, C. W. (2016). Plant grafting: insights into tissue regeneration. *Regeneration*, 4(1), 3-14. https://doi.org/10.1002/reg2.71.
- Melnyk, C. W., & Meyerowitz, E. M. (2015). Plant grafting. *Current Biology*, 25(5), R183-188. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.01.029.
- Okay, Y., & Büyükkartal, N. (2001). Antepfıstığında (*Pistacia vera* L.) farklı aşı yöntemlerinin anatomik yönden karşılaştırılması. *The Herb Journal of Systematic Botany*, 8(1), 73-82.
- Özdemir, B., Yılmaz, A., Büyükkartal, H. N., & Okay, Y. (2019). Anatomical analysis of graft compatibility in some almond scion-rootstock combination. *Journal of Agricultural Sciences*, 25(1), 29-37. https://doi.org/10.15832/ankutbd.538985.
- Pina, A., Errea, P., & Martens, H. J. (2012). Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp. *Scientia Horticulturae*, 143, 144-150. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.06.017.
- Polat, A. A., & Kaşka, N. (1992). Yeni Dünyalarda (*Eriobatrya japonica* L.) T, yama ve yongalı aşıların anatomik ve histolojik olarak incelenmesi. *Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi*, 16(3), 529-541.
- Polat, M., Dolgun, O., Yıldırım, A., Aşkın, M. A., & Gökbayrak, Z. (2010). Graft union formation of spur apple varieties grafted on different rootstocks. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(2), 490-493.
- Seferoğlu, G., Tekintaş, F. E., & Özyiğit, S. (2004). Determination of grafting union success in 0900 Ziraat and Starks Gold Cherry cultivars on Gisela 5 ve SL 64 rootstocks. *Pakistan Journal of Botany*, 36(4), 811-816.
- Serdar, Ü., Köse, B., & Yılmaz, F. (2005). The structure of graft unions in European chestnut using different grafting methods. *HortScience*, 40(5), 1474-1477. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.5.1474.
- Şenyurt, M. (2017). *Corylus colurna* L. anacına bazı fındık çeşitlerinin aşılabilirliğinin incelenmesi (Doktora Tezi). Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi.
- Tekintaş, F. E. (1988). *Cevizlerde (Juglans regia L.) aşı kaynaşması ve aşı ile ilgili sorunlar üzerinde araştırmalar* (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi, Bornova, İzmir. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi.
- Tekintaş, F. E. (1991). Farklı anaçlar üzerine aşılana turunçgil ve çeşitlerinde kaynaşmanın anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine araştırmalar. *Van Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 112, 68-81.
- Ünal, A. & Özçağırın, R. (1986). Göz aşısında aşı kaynaşmasının meydana gelişi üzerine bir araştırma. *Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi*, 10(3), 339-407.
- Watanabe, S., & Nakazatomi, N. (1990). Formation of the graft union in apple T-budding. *Bulletin of the Yamagata University. Agricultural Science*, 2(1), 149-153.



Yaşlı Pırasa (*Allium porrum* L.) Tohumlarının Çıkış ve Fide Gelişimine Hidro ve Osmoprimum Uygulamalarının Etkisi

Effect of Hydro-and Osmoprimum on The Emergence and Seedling Growth of Naturally Aged Leek (*Allium porrum* L.) Seeds

Levent Arın¹ , Ömer Çerence² 

Geliş Tarihi (Received): 21.03.2023

Kabul Tarihi (Accepted): 02.07.2023

Yayın Tarihi (Published): 21.08.2023

Öz: Tohum kalitesi ve gücü (vigor) sebze üretiminde verim ve kaliteyi etkileyen en önemli faktördür. Çabuk bozulma özelliği gösteren pırasa tohumlarının (*Allium porrum* L. cv. İnegöl) çıkış ve gücünü iyileştirmek için tohumlar -1.0 MPa osmotik potansiyele sahip PEG₆₀₀₀ and KNO₃ çözeltilerinde (osmoprimum) ve suda (hidropriming) farklı sürelerde (6, 12 ve 24 saat) tutulmuştur. Daha sonra oda koşulları ve sabit 30°C'de çıkış testleri yürütülmüş ve fideler morfolojik olarak değerlendirilmiştir. En yüksek çıkış oranı 30°C'de tohumların 12 saat süreyle suda bekletilmesi ile (hidropriming) elde edilmiştir. Ağırlık, boy, çap ve yaprak sayısı gibi fide özelliklerindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı olmasada, tüm uygulamalar (hidro- ve osmoprimum) fide özelliklerini iyileştirmiş ve en yüksek vigor indeks değerleri (0.731 and 0.637) 12 saat su ile muamele edilmiş tohumlardan elde edilmiştir. Ekimden önce pırasa tohumlarının 12 saat süreyle ıslatılması (hidropriming) tavsiye edilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Allium porrum* L., priming, çıkış, fide kalitesi

&

Abstract: Seed quality and vigor are the most critical factors affecting yield and quality in vegetable production. In order to improve the emergence and vigor of leek seeds (*Allium porrum* L. cv. İnegöl), has rapidly deteriorating properties, the seeds were kept in PEG₆₀₀₀ and KNO₃ solutions (osmoprimum) and water (hydropriming) having an osmotic potential of -1.0 MPa at different times (6, 12 and 24 hours) as pre-sowing treatments. After then, emergence tests were conducted at room conditions and constant 30°C and the seedlings were evaluated morphologically. The highest emergence rate was obtained at 30°C by keeping the seeds in water (hydropriming) for 12 hours. Although the differences in seedling characteristics such as weight, height, diameter and number of leaves were not statistically significant, all treatments (hydro- and osmoprimum) improved seedling characteristics, and the highest vigor index values (0.731 and 0.637) were obtained from seeds treated with water for 12 hours. Soaking (hydropriming) leek seeds for 12 hours before sowing could be recommended.

Keywords: *Allium porrum* L., priming, emergence, seedling quality

Atıf/Cite as: Arın, L. & Çerence, Ö. (2023). Yaşlı pırasa (*Allium porrum* L.) tohumlarının çıkış ve fide gelişimine hidro ve osmoprimum uygulamalarının etkisi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 9 (2),135-142 doi: 10.24180/ijaws.1268722

İntihal-Plagiarism/Etik-Ethic: Bu makale, en az iki hakem tarafından incelenmiş ve intihal içermediği, araştırma ve yayın etiğine uyulduğu teyit edilmiştir. / This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Prof. Dr. Levent Arın, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, larin@nku.edu.tr (Sorumlu Yazar / Corresponding author)

² Lisans Öğrencisi Ömer Çerence, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, cerence.omer@gmail.com

GİRİŞ

Sebzelerde iyi bir gelişme ve yüksek verimin elde edilmesinde temel koşul, farklı biyotik ve abiyotik stresle mücadele potansiyelinin göstergesi kabul edilen erken, yeterli çıkış ile sağlıklı genç bitkinin (fidenin) teminidir. Bunu sağlayabilecek başlangıç materyali olan tohum, temel ve en kritik girdidir ve gübre, ilaç, su vb. diğer girdilere göre ucuz ve en önemli bileşen olarak kabul edilir. Ancak kaliteli tohumluk kullanımı durumunda ekim sonrası kültürel uygulamalarından beklenen fayda, yüksek ve kaliteli verim sağlanabilmektedir (Arın vd., 2021).

Pırasa (*Allium porrum* L.) sağlıklı beslenme ve hastalıklardan korunma adına sahip olduğu özellikleri ile öne çıkan sebze türleri arasında yer almaktadır. Dünya’da, özellikle Türkiye’nin de yer aldığı Akdeniz havzası pırasanın gen ve önemli üretim merkezidir (Alan vd., 2016; Garcia-Herrera vd., 2014; Şalk vd., 2008). FAO (2023)’nun 2021 verilerine göre Dünya’da 134 168 ha’da 2 213 183 ton pırasa üretilmiştir. Türkiye’nin pırasa üretimi ise 168 710 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2023). Serin iklim sebzesi olan pırasa yaygın olarak fideden yetiştirilir. Pırasa tohumları diğer sebze türlerine göre, genel olarak düşük ve uniform olmayan çıkış gösterir ve fide yetiştirme süresi uzundur (Krug, 1991; Romano ve Bravi, 2021). Ülkemizde fide elde etmek için pırasa tohumları bölgelere göre değişmekle birlikte yaz aylarında ekilir. Bu dönemde, günümüz küresel ısınma nedeniyle görülen ekstrem yüksek sıcaklıkların daha sıklıkla görülüyor olması serin iklim sebzesi olan pırasada çimlenme, çıkış ve fide gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir. Keza ticari sebze fidesi üretiminde karlılık için temel hedef, yüksek, homojen, hızlı çıkış ve fide gelişimini temin etmektir.

Pırasa tohumları nispeten düşük sıcaklıklarda (5-20 °C) çimlenmekte, ancak 25 °C’nin üzeri sıcaklıklarda çimlenmede önemli azalışlar görülmektedir (Corbineau vd., 1994; Parera ve Cantliffe, 1992). Tohumların depo performansı ve ömrü üzerine, üretim dönemindeki kültürel işlemler, çevre koşulları, tohumun olgunluk düzeyi gibi birçok faktörün etki etmesi yanında tür ve hatta çeşidin genetik vasfı en belirleyici özelliktir (Arın, 2018; Arın ve İlbi, 2019). Pırasa tohumlarının depo yaşamının uzun olmadığı, uygun koşullarda bile depolama süresinin 2 yıl olduğu belirtilmekte (Lorenz ve Maynard, 1988), ve Şalk vd. (2008) tarafından 5 yıldan daha uzun süre saklanan tohumlarda canlılığın tamamen kaybolduğu ifade edilmektedir. Hem ticari ölçekte tohum üretimi, depolaması yapan, fide üreten firmalar hem de üretimini kendi tohumuyla sürdüren üreticiler için pırasa tohumlarının ticarete söz konusu olabilecek yeterli canlılıkta tutulabilmesi (minimum çimlenme oranı) keza arzulanan fide gelişim düzeyinin elde edilmesi oldukça önemlidir.

Tohum ekimi sonrası görülebilen olumsuz ekolojik koşullar ve teknik hatalar çimlenme ve fide çıkışını kötüleştirmektedir. Tohum gücü (vigor), elverişsiz yetiştirme koşullarında bile homojen çıkış ve fide gelişim potansiyelini belirleyen önemli bir tohum özelliğidir (Batool vd., 2015; Sher vd., 2019). Tohumun özellikle olumsuz koşullardaki güç ve performansını iyileştirmek için yapılan ekim öncesi tohum uygulamalarından biride priming’dir. Priming ile tohumlara nem girişine imkan verecek şekilde metabolik faaliyetin başlaması ve tohumların ileri bir fizyolojik aşamaya kontrollü koşullarda ulaşması sağlanır (Arın ve Kıyak, 2003). Bu kapsamda yer alan birçok uygulama içerisinde, tür ve çeşitlere bağlı olarak tohum dokularının suya farklı afinite göstermesi ve tohumların eşit hidrat olmadığı gibi sakıncaları yanında ucuz, kolay ve çevre dostu olarak gösterilen Hidropriming ve PEG, KNO₃ gibi materyallerle osmotik potansiyeli düzenlenebilir osmotik çözeltiler kullanarak tohumlara kontrollü su girişine imkan sağlanan Osmopriming gibi uygulamalar yer almaktadır (Ali vd., 2020; Eshkab ve Harris, 2020; Farooq vd., 2019; Hussain vd., 2019; Pagano vd., 2023). Hidro ve osmopriming uygulamalarının tohum su alım etkinliğini arttırarak yüksek sıcaklığı da kapsayan birçok stres şartlarının olumsuz etkilerini azaltabildiği bildirilmektedir (Elkoca vd., 2007; Jisha vd., 2013; McDonald, 2000; Ullah vd., 2019). Birçok farklı sebze tohumlarında yapılan bu uygulamaların sonuçlarını içeren çok sayıda çalışmada, uygulamalar sonrası tohumdaki kazanımlar, uygulama tekniği, sıcaklık, ortam, süre, tür ve çeşitlere kadar birçok faktöre göre farklılık göstermektedir (Lei vd., 2021; Sher vd., 2019; Waqas vd., 2019).

Bu çalışmanın başlıca amacı, canlılık azalışının hızlı ve fide üretim sürecinin nispeten uzun olduğu pırasada, yaşlı tohumların ucuz ve kolay uygulanabilir priming yöntemleri (hidro- ve osmopriming) ile

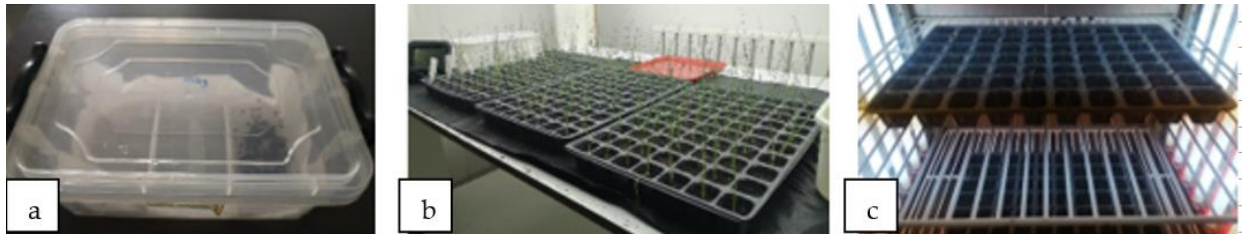
canlılık ve gücünü arttırmak ve bu uygulamaların çıkış ve bazı fide morfolojik özellikleri üzerine etkisini belirlemektir.

MATERYAL VE METOT

Denemede bitkisel materyal olarak üretim yılı 2018 olan İnegöl-92 pırasa çeşidinin buzdolabında muhafaza edilen 3 yıllık organik tohumları kullanılmıştır (Ziya Organik Tarım İşletmeleri A.Ş., Sarmısaklı Çiftliği, Lüleburgaz/Kırklareli). Tohumların deneme başlangıcında çimlenme oranı %82 ve 1 000 tane ağırlığı 3.233 g olarak belirlenmiştir. Hidropriming için saf su, osmoprining için özellikle pırasa ile yürütülen önceki çalışmalar da dikkate alınarak PEG₆₀₀₀ ve KNO₃ ile -1.0 MPa osmotik potansiyele sahip çözeltiler hazırlanmıştır (Arın, 1995; Brocklehurst vd., 1984; Corbinea vd., 1994; Dearman vd., 1987; İbrahim, 2019; Lei vd., 2021; Parera ve Cantliffe, 1992). Çözeltilerin osmotik potansiyellerinin düzenlenmesinde Michel and Kaufman (1973) ile Kaçar vd. (2002)'den yararlanılmıştır.

Tohumlar osmotik çözelti ve su uygulamaları için boyutları 17 x 12 x 6 cm olan steril hale getirilmiş tabanına 2 katlı kurutma kağıdı serilen, içerisinde yaklaşık 15 ml çözelti ya da saf su bulunan kilitlenebilir kaplarda 20 ± 1 °C'de karanlıkta 6, 12 ve 24 saat süreyle tutulmuş daha sonra akan su altında 1 dk süreyle yıkanmış ve 3 kez saf sudan geçirilerek oda koşullarında başlangıç nem içeriklerine kadar kurutulmuştur (Şekil 1a)

Çıkış testlerinde pH'ı 6.0, EC değeri 0.40 dS/m olan ve 14:10:18 oranlarında NPK gübre ilavesi yapılmış ticari sebze fidesi üretimine uygun torf kullanılmıştır (Klassman Potground-H, Doktor Tarsa Tarım San. ve Tic. A.Ş., Antalya-Türkiye). Tohumlar, her bir gözün 40 cc hacme sahip olduğu torf doldurulmuş çok gözlü kaplara yaklaşık 1 cm derinliğinde ekilmiştir. Ekim sonrası, kapların yarısı sıcaklığın değişken olduğu odaya, kalan yarısı da stres koşulları olarak kabul edilen 30 °C sabit sıcaklığa (pırasa için sıcaklık stresi) ayarlanmış iklim dolabına bırakılmıştır (Şekil 1b,c). Her iki ortamda da çıkış başladıktan sonra günde 14 saat süreyle fotosentetik akış yoğunluğu yaklaşık 195-210 µmol m⁻² s⁻¹ olacak şekilde aydınlatma yapılmıştır. Sıcaklık ve oransal nemin günlük kayıt alınarak izlendiği oda koşullarında maksimum ve minimum sıcaklıklar ve oransal nem değerleri sırası ile 32.5 °C, 17.3 °C ve %69, %28 aralıklarında yer almış ve ortalama değerler 28.1 °C, 23.0 °C ve %52, %41 olarak kaydedilmiştir. İklim dolabında ise deneme süresince sıcaklık 30±1 °C ve oransal nem %65±5 olarak sabit tutulmuştur.



Şekil 1. Tohum uygulamaları (a), oda koşullarında çıkış, fide testi (b), sabit yüksek sıcaklıkta (30 °C) çıkış, fide testi (c)
Figure 1. Seed priming (a), emergence, seedling test at room temperature (b), emergence, seedling test at constant high temperature (30 °C) (c)

Çıkış kayıtları her gün alınmış ve kotiledon ucu yetiştirme yüzeyinden ayrılıp dik hale gelenler (bayrak safhası) çıkmış olarak kabul edilmiştir (Arın vd., 2021).

Ortalama çıkış süresi (OÇS) gün olarak aşağıdaki eşitlik (1)'e göre hesaplanmıştır.

$$OÇS = \frac{\sum n \times t}{\sum n} \quad (1)$$

$n = t$ zamanında yeni çıkmış fide sayısı, $t =$ Ekimden sonrası gün sayısı, $\sum n =$ Toplam çıkmış fide sayısı
Vigor indeks Mereddy vd. (2000)'e göre hesaplanmıştır (Eşitlik 2)

$$VI = \left(\frac{G1}{D1}\right) + \left(\frac{G2}{D2}\right) + \dots + \left(\frac{GL}{DL}\right) \quad (2)$$

$G1$ = Çıkmış tohum sayısı (ilk sayım), $D1$ = İlk sayıma gün sayısı, GL = Çıkmış tohum sayısı (son sayım), ve DL = Son sayıma gün sayısı

Her bir uygulama ve tekerrürden tesadüfen seçilmiş beşer adet fide örneğinde ölçüm, sayım ve analizler gerçekleştirilmiştir. Yetiştirme ortamından alınan fidelerin köklerindeki ortamı (torf) uzaklaştırmak için fideler önce su dolu kap içerisinde bekletilmiş sonra akan su altında dikkatlice yıkanmış ve yüzey suyunu uzaklaştırmak için kağıt havlu üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Taze ağırlıkları, 0.0001 g'a hassas tartıda belirlenen fidelerde görülebilir yaprak sayısı kaydedilmiş, dijital kumpas ile fide yetiştirme hattının hemen üzerinden gövde çapları ölçülmüş, fide kök boğazı ile yaprak uç noktası esas alınarak fide uzunlukları tespit edilmiştir. Daha sonra fide kuru ağırlığı, fidelerin 65°C'de 48 saat kurutulmasıyla belirlenmiştir.

Deneme, 3 farklı priming ajanı (saf su, PEG₆₀₀₀ ve KNO₃) ve 3 uygulama süresi (6, 12 ve 24 saat) ve uygulama görmeyen tohumlarında (kontrol) yer aldığı tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak kurulmuş tüm veriler varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalama değerler arasındaki farklılıklar LSD testiyle karşılaştırılmıştır. Yüzde değerler için istatistik hesaplama öncesi arc Sin'e dönüştürülmüş ancak sonuçlar çizelgelerde gerçek değerler olarak sunulmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Oda koşullarında yürütülen denemede, istatistiki anlamda önemli olmasa da 24 saat KNO₃ uygulaması hariç tüm tohum uygulamaları, kontrolün sahip olduğu %66.6'lık çıkış oranından daha yüksek çıkış değerlerine ulaşmıştır (Çizelge 1). Sabit yüksek sıcaklıkta ise %100 çıkış oranı ile 12 saat saf suda tutulan tohumlar diğer tüm uygulamalarından önemli farklılık göstermiştir. Her iki yetiştirme ortamında, 11.40 ile 6.36 gün arasında değişen ortalama çıkış süreleri arasındaki farklılıkların önemli olmadığı belirlenmiştir. Vigor indeks bakımından ise oda koşullarında tüm uygulamaların aldıkları değerler kontrolden (0.344) daha yüksek olmuş, hem oda koşulları hem de 30 °C'de 12 saat süreyle suyla muamele edilen tohumların en yüksek vigor indeks değerine ulaştıkları görülmüş (sırasıyla 0.731 ve 0.637), ancak bu farklılıkların istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Tohum uygulamalarının oda koşulları ve sabit yüksek sıcaklıkta (30 °C) çıkış oranı (%), çıkış süresi (gün) ve vigor indeks üzerine etkisi

Table 1. Effect of seed priming on emergence percentage (%), emergence time (days) and vigor index at room conditions and constant high temperature (30 °C)

Uygulamalar	Oda koşulları				30 °C		
	Saat	Çıkış oranı	Çıkış süresi	Vigor indeks	Çıkış oranı	Çıkış süresi	Vigor indeks
PEG	6	90.40	11.03	0.523	76.2 b	8.60	0.469
	12	80.90	10.43	0.444	61.9 b	6.36	0.425
	24	90.50	9.76	0.730	66.6 b	7.20	0.434
KNO ₃	6	85.70	10.13	0.719	76.2 b	9.16	0.506
	12	80.90	9.46	0.495	71.4 b	7.60	0.448
	24	61.70	6.76	0.606	61.8 b	7.23	0.416
Saf su	6	90.40	11.00	0.559	80.9 b	8.70	0.518
	12	90.50	10.53	0.731	100.0 a	11.40	0.637
	24	84.30	8.63	0.419	76.1 b	8.10	0.517
Kontrol		66.60	8.26	0.334	71.4 b	8.20	0.453
		Ö.D.*	Ö.D.	Ö.D.	p < 0.05	Ö.D.	Ö.D.

* Önemli değil

Oda koşullarında yetiştirilen fidelerin özelliklerinde, uygulamalara bağlı olarak görülen farklılığın önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 2). Bununla birlikte en yüksek fide taze ağırlık değeri (1.33 g) 12 saat süreyle suda tutulan tohumlardan elde edilmiş ve tüm uygulamalar kontrolden daha yüksek ya da eşit fide yaş ve kuru ağırlık değerleri vermiştir. Benzer şekilde tüm tohum uygulamalarından elde edilen fidelerin çapları kontrol bitkilerinde görülen ortalama 2.51 mm'den daha yüksek olmuştur.

Çizelge 2. Tohum uygulamalarının oda koşullarında fide taze ağırlığı (g), fide kuru ağırlığı (mg), fide boyu (cm), fide çapı (mm) ve yaprak sayısı (adet) üzerine etkisi

Table 2. Effect of seed priming on seedling fresh weight (g), seedling dry weight (mg), seedling height (cm), seedling diameter (mm) and number of leaves at room conditions

Uygulamalar	Saat	Taze ağırlık	Kuru ağırlık	Fide boyu	Fide çapı	Yaprak sayısı
PEG	6	1.20	167	27.86	2.96	4.22
	12	0.99	153	26.44	2.70	3.77
	24	1.28	153	26.99	2.80	4.00
KNO ₃	6	1.30	190	28.02	2.82	3.88
	12	1.04	133	28.10	2.92	3.33
	24	1.22	146	28.11	3.02	3.77
Saf su	6	1.04	173	28.56	2.68	3.89
	12	1.33	176	27.19	2.67	4.11
	24	1.19	170	27.08	2.62	3.89
Kontrol		0.97	133	26.83	2.51	3.78
		Ö.D.*	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

* Önemli değil

Pırasa için yüksek sıcaklık stres ortamı olarak kabul edilen 30 °C'de yürütülen denemede ise fide özelliklerinin tümünde oda şartlarındakilere kıyasla gerileme olduğu söylenebilir (Çizelge 3). Tohum uygulamaları arasında görülen farklılığın önemli olmamasına rağmen 24 saat suda tutulan tohumlardan elde edilen fidelerin taze ve kuru ağırlıkları ile fide boylarının diğerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 3. Tohum uygulamalarının sabit yüksek sıcaklıkta (30 °C) fide taze ağırlığı (g), fide kuru ağırlığı (mg), fide boyu (cm), fide çapı (mm) ve yaprak sayısı (adet) üzerine etkisi

Table 3. Effect of seed primings on seedling fresh weight (g), seedling dry weight (mg), seedling height (cm), seedling diameter (mm) and number of leaves at constant high temperature (30 °C)

Uygulamalar	Saat	Taze ağırlık	Kuru ağırlık	Fide boyu	Fide çapı	Yaprak sayısı
PEG	6	0.44	37	20.54	1.69	3.10
	12	0.41	33	20.39	1.49	3.47
	24	0.28	21	17.17	1.69	2.96
KNO ₃	6	0.42	34	22.12	1.60	3.56
	12	0.27	22	18.32	1.26	2.77
	24	0.29	25	16.26	1.50	2.87
Saf su	6	0.37	30	21.28	1.82	3.33
	12	0.40	32	21.34	1.55	3.10
	24	0.47	40	22.28	1.61	3.37
Kontrol		0.34	29	18.04	1.45	3.57
		Ö.D.*	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

* Önemli değil

Priming genel olarak tohum performansını arttırmaya dönük ekim öncesi tohum uygulamalarındandır. Beklenen faydanın derecesi literatürde birçok örneğine rastlandığı gibi uygulama tekniği, sıcaklık, ortam, süre, tür ve çeşitlere kadar birçok faktöre göre değişmektedir. (Lei vd., 2021; Sher vd., 2019; Waqas vd.,

2019). Ekim öncesi uygulaması olarak PEG çözeltilisinin kullanıldığı ve çimlenme üniformluğunun arttığı ve çimlenme süresinin azaldığını bildiren çalışmalarda çimlenme testleri pırasa için optimum olarak kabul edilebilecek 15 °C'de yürütülmüştür (Bray vd., 1989; Brocklehurst vd., 1984). Corbineau vd. (1994) pırasa tohumları için PEG₆₀₀₀ ile -1.5 MPa 'nın üzeri osmotik potansiyele sahip çözeltilerin, pırasa tohumlarının oksijen eksikliğine duyarlı olması nedeniyle uygun olmadığını belirtirken, 15 °C'deki uygulamalar için 7-10 günlük süreyi önermiştir. Parera ve Cantliffe (1992), 15 °C'de 10 gün süreyle PEG (-1.5 MPa) ile tohum uygulamasının yüksek sıcaklık stresi altındaki pırasa tohumlarında çimlenme ve çıkışı iyileştirdiğini, ancak sera denemelerindeki değişken yüksek sıcaklıkta Mannitol, PEG, KNO₃ ve kontrol arasındaki çıkış oranları bakımından görülen farkın önemli olmadığını ifade etmişlerdir. Diğer türlerde yürütülen bazı çalışmalarda da örneğin, uygulama sıcaklığının etkisinin farklı sebze türlerinde test edildiği bir çalışmada gal soğanında KH₂PO₄, soğanda Ca(NO₃)₂ ile kombine edilmiş PEG uygulamalarında, ortalama çimlenme süresini azalırken, çimlenme oranında bir farklılık görülmemiştir (Jeong vd., 2000). Singh vd. (2014), soğanda 2 günü aşan uygulama süresinin tohum çimlenmesinde azalışa yol açtığını ve en yüksek çimlenme oranının 24 saatlik uygulama süresinden elde edildiğini bildirmektedir. Arın (1995), sert kabukluluk nedeniyle çimlenme, çıkış güçlüğü gösteren kuşkonmaz tohumlarını -1.2 MPa osmotik potansiyele sahip PEG çözeltilisi içerisinde farklı sürelerde tutmuş ve uygulama ile ortalama çıkış süresi kısalmışken çıkış oranında istatistiksel bir farkın olmadığını belirlemiştir. Zaitalia vd. (2021) ise farklı süre ve konsantrasyonlarda su, KNO₃ ve salisilik asit çözeltilerinde tuttukları domates tohumlarında uzun süreli hidropriming (4 gün) ve %1.2 KNO₃ uygulamalarında düşük çimlenme oranı ve hızı görüldüğünü bildirmekte ve 24 saat süreyle hidroprimingi tavsiye etmektedirler. Bu çalışmada da, 30 °C'deki çıkış oranı hariç pırasa çıkış ve fide özellikleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel önemlilikte olmaması, materyal olarak kullanılan tohumun başlangıç çimlenme oranının nispeten yüksek olması (%82), yukarıda belirtilen çalışmalarda kullanılan priming ajan ve sürelerindeki farklılıklar nedeniyle olabilir. Bu sonucun yanında, oda koşullarında tüm uygulamalarda kontrolden daha yüksek çıkış oranı, fide taze ağırlığı ve çap ile vigor indeks değerleri kaydedilmiş ve stres sıcaklığı olarak seçilen 30 °C'de en düşük fide çapı kontrolde belirlenmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada yer alan her iki çıkış ve fide yetiştirme ortamından (oda koşulları, 30 °C) elde edilen sonuçlara göre pırasa tohumlarının ekim öncesi 12 saat süreyle saf suda tutulması (hidropriming) önerilebilir bulunmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKISI

Levent Arın: Denemenin kurulması, istatistiksel analiz, sonuçların değerlendirilmesi, makalenin yazılması
Ömer Çerençe: Deneme kayıtlarının tutulması, verilerin alınması ve ölçüm, tartım vb. ile ilgili laboratuvar çalışmaları, istatistik değerlendirme

TEŞEKKÜR

Makale, makale yazarlarından Ömer Çerençe tarafından hazırlanan ve Prof. Dr. Levent Arın'ın Akademik Danışman olarak yer aldığı TÜBİTAK, 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında desteklenen projenin sonuçlarından üretilmiştir. Çalışmaya katkı sağlayan TÜBİTAK'a ve Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Alan, A. R., Celebi Toprak, F. & Kaska, A. (2016). Production and evaluation of gynogenic leek (*Allium ampeloprasum* L.) plants. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 125, 249–259. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-0944-2>.
- Ali, M. M., Javed, T., Mauro, R. P., Shabbir, R., Afzal, I. & Yousef, A.F. (2020). Effect of seed priming with potassium nitrate on the performance of tomato. *Agriculture*, 10, 4998. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110498>.
- Arın, L. (1995, Ekim 13-16). *Kuşkonmaz tohumunda farklı sürelerde osmotik çözeltiliyle muamelenin çıkış üzerine etkisi*. [Sözlü bildiri]. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Adana, Türkiye.



- Arın, L. & Kıyak, Y. (2003). The effects of pre-sowing treatments on emergence and seedling growth of tomato seed (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under several stress conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(11); 990-994.
- Arın, L. (2018). Tohum depolama. *Türktob*, 26, 8-10.
- Arın, L. & İlbi, H. (2019). Tohumların depolanması. T. Kesici (Ed.), *Tohum, tohumculuk ve teknolojileri Cilt 4* içinde (ss. 1729-1761). Bisab-Ankara.
- Arın, L., Şahin, N., Uludağ, M. & Kırcı, A. K. (2021). Determination of emergence and seedling characteristics in one- and two-year seeds of some long-day onion (*Allium cepa* L.) varieties. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11 (Special Issue): 3347-3352. <https://doi.org/10.21597/jist.1028421>.
- Batool, A., Ziaf, K., Amjad, M. (2015). Effect of halo-priming on germination and vigor index of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Journal of Environmental and Agricultural Sciences*, 2 (7): 1-9.
- Bray, C. M., Davinson, P. A., Ashraf, M. & Taylor, R. M. (1989). Biochemical changes during osmoprimum of leek seeds. *Annals of Botany*, 63, 185-193. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087722>.
- Brocklehurst, P. A., Dearman, J. & Drew, R. L. K. (1984). Effects of osmotic priming on seed germination and seedling growth in leek. *Scientia Horticulturae*, 24(3-4): 201-210. [http://doi.org/10.1016/0304-4238\(84\)90103-1](http://doi.org/10.1016/0304-4238(84)90103-1).
- Corbineau, F., Picard, M. A. & Come, D. (1994). Germinability of leek seeds and its improvement by osmoprimum. *ISHS Acta Horticulturae*, 371, 45-52. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.371.4>.
- Dearman, J., Brocklehurst, P. A. & Drew, R. L. K. (1987). Effects of osmotic priming and ageing on the germination and emergence of carrot and leek seed. *Annals of Applied Biology*, 111 (3): 717-722. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1987.tb02029.x>.
- Elkoca, E., Haliloglu, K., Esitken, A. & Ercisli, S. (2007). Hydro- and osmoprimum improve chickpea germination. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B -Soil & Plant Science*, 57 (3): 193-200. <https://doi.org/10.1080/09064710600914087>.
- Eshkab, I. A. & Harris, P. J. C. (2020) Seed priming: Factors affecting efficacy. *International Review of Basic and Applied Sciences*, 8(4): 31-52.
- FAO. (2023). Tarımsal üretim istatistikleri. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Erişim tarihi: 22 Şubat 2023].
- Farooq, M., Usman, M., Nadeem, F., Rehman, H., Wahid, A., Basra, S. M. A. & Siddique, K. H. M. (2019). Seed priming in field crops: Potential benefits, adoption and challenges. *Crop Pasture Science*, 70, 731-771. <https://doi.org/10.1071/CP18604>.
- Garcia-Herrera, P., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R., Pardo-de-Santayana, M., Molina, M. & Tardío, J. (2014). Nutrients, phytochemicals and antioxidant activity in wild populations of *Allium ampeloprasum* L., a valuable underutilized vegetable. *Food Research International*, 62, 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.004>.
- Hussain, H. A., Hussain, S., Anjum, S. A. & Hussain, S. (2019). Seed priming toward enhanced chilling tolerance in field crops: An overview. In M. Hasanuzzaman & V. Fotopoulos (Eds.), *Priming and pretreatment of seeds and seedlings* (pp. 265-286). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Ibrahim, E. A. A. (2019). Fundamental processes involved in seed priming. In M. Hasanuzzaman & V. Fotopoulos (Eds.), *Priming and pretreatment of seeds and seedlings* (pp. 63-116). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Jeong, Y., Kim, J. C., Lie, J.-C., Jeong, Y. O. & Cho, J. L. (2000) Effect of priming duration and temperature on germinability of carrot, lettuce, onion and Welsh onion seeds. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 18(3): 327-333.
- Jisha, K. C., Vijayakumari, K. & Puthur, J. T. (2013). Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologia Plantarum*, 35, 1381-1396. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1186-5>.
- Kaçar, B., Katkat, V. & Öztürk, Ş. (2002). *Bitki fizyolojisi. Vipaş AŞ*. Yayın No: 74, Bursa.
- Krug, H. (1991). *Gemüse produktion*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Lei, C., Bagavathiannan, M., Wang, H., Sharpe, S. M., Meng, W. & Yu, J. (2021). Osmoprimum with polyethylene glycol (PEG) for abiotic stress tolerance in germinating crop seeds: A Review. *Agronomy*, 11, 2194. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112194>.
- Lorenz, O. A. & Maynard, D. N. (1988). *Knott's handbook vegetable growers*. Third Edition. Wiley-Interscience Publication, New York.
- McDonald, M. B. (2000). *Seed priming*. In: M. Black & J.D. Bewley (Eds) *Seed technology and its biological basis* (pp 287-325). Sheffield Academic Press, Sheffield.
- Mereddy, R., Wu, L., Hallgren, S. W., Wu, Y. & Conway, K. E. (2000). Solid matrix priming improves seedling vigor of okra seeds. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, 80, 33-37.
- Michel, B. E. & Kaufman, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51, 914-916. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.51.5.914>.
- Pagano, A., Macovei, A., Xia, X., Padula, G., Hołubowicz, R. & Balestrazzi, A. (2023). Seed priming applied to onion-like crops: State of the art and open questions. *Agronomy*, 13, 288. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020288>.

- Parera, C. A. & Cantliffe, D. J. (1992). Priming leek seed for improved germination and emergence at high temperature. *HortScience*, 27(10): 1077-1079.
- Romano, A. & Bravi, R. (2021). Hydrotimic model to evaluate the effects of a set of priming agents on seed germination of two leek cultivars under water stress. *Seed Science and Technology*, 49(2): 159-174. <https://doi.org/10.15258/sst.2021.49.2.07>.
- Sher, A., Sarwar, T., Nawaz, A., Ijaz, M., Sattar, A. & Ahmad, S. (2019). Methods of seed priming. In M. Hasanuzzaman & V. Fotopoulos (Eds.), *Priming and pretreatment of seeds and seedlings* (pp. 1-10). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Singh, P. K., Pandita, V. K., Tomar, B. S. & Seth, R. (2014). Germination and field emergence in osmotic and solid matrix priming in onion (*Allium cepa*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 84(12): 1561-1564.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., & Polat, S. (2008). *Özel Sebzeçilik*. Onur Grafik Matbaa ve Reklam Hizmetleri, İstanbul, 488 s.
- TÜİK. (2023). Bitkisel üretim istatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> [Erişim tarihi: 22 Şubat 2023].
- Ullah, A., Shahzad, B., Tanveer, M., Nadeem, F., Sharma, A. Lee, D. J. & Rehman, A. (2019). Abiotik stress tolerance in plants through pre-sowing seed treatments with mineral elements and growth regulators. In M. Hasanuzzaman & V. Fotopoulos (Eds.), *Priming and pretreatment of seeds and seedlings* (pp. 427-458). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Waqas, M., Korres, N. E., Khan, M. D., Nizami, A., Deeba, F., Ali, I. & Hussain, H. (2019). Advances in the concept and methods of seed priming. In M. Hasanuzzaman & V. Fotopoulos (Eds.), *Priming and pretreatment of seeds and seedlings* (pp. 11-43). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Zaitalia, M., Nurul Atilia Shafienaz, H., Amyita Witty, U. & Muhamad Arizal, B. (2021). Effect of seed priming treatments on seed quality of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Transaction of the Malaysian Society of Plant Physiology*, 28, 159-164.



Role of the Fungal Flora on Kernel Rot of Chestnuts

Kestane Meyve Çürüklüğünde Fungal Floranın Rolü

Deniz Çakar¹ , Seçil Akıllı Şimşek² 

Received: 18.02.2023

Accepted: 05.04.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: In order to determine the fungi causing kernel rot on chestnut, 150 chestnut kernels were collected from chestnut forests of Düzce province. Ninety-eight of the kernels showed necrosis at various sizes, while the rest of 52 were healthy in appearance. Twelve fungi were recovered from the necrotic kernels, while four from the healthy kernels. The most frequently isolated fungus from the necrotic kernels was *Gnomoniopsis smithogilyi*, obtained from 24 of the kernels. It was also isolated from 5 healthy kernels and produced necrosis when inoculated on the intact kernels. Besides *G. smithogilyi*; 11 fungi; *Diplodina castanea* (1), *Botrytis cinerea* (6), *Aureobasidium* sp. (4), *Alternaria alternata* (2), *Alternaria tenuissima* (1), *Penicillium* spp. (19), *Trichoderma* sp. (12), *Cladosporium* sp. (2), *Cylindrocarpon* sp. (2), *Mucor* sp. (10), *Rhizopus stolonifer* (5) and bacterial growth were also recovered from necrotic kernels. On the other hand, *G. smithogilyi* (5), *Penicillium* sp. (9), *Trichoderma* sp. (6), *Mucor* sp. (3) and bacterial growth were also found out from the symptomless kernels. *G. smithogilyi*, *D. castanea*, *B. cinerea*, *Cladosporium* sp. and *Penicillium* sp. produced necrosis at varying rates when inoculated on to intact kernels. Compared to other species, *Penicillium* sp. showed the lowest rate of pathogenicity, which was the dominant fungus on the healthy fruits and recovered from 9 of them.

Keywords: *Castanea sativa*, chestnut rot, fungal flora

&

Öz: Meyve çürüklüğüne neden olan fungusları belirlemek için, Düzce ilinde bulunan kestane ormalarından 150 adet kestane meyvesi toplanmıştır. Toplanan meyvelerin 98 tanesinde farklı ölçülerde nekrozlar görülmüş olup, 52 adedinin ise semptomsuz olduğu gözlenmiştir. Nekrozlu meyveden 12 farklı fungus tespit edilirken, sağlıklı meyvelerden 4 farklı fungus tespit edilmiştir. Nekrozlu meyvede en sık rastlanan fungus *Gnomoniopsis smithogilyi* (24) olmuştur. Ayrıca semptom göstermeyen 5 meyveden de bu fungus izole edilmiştir. *Gnomoniopsis smithogilyi*'nin yanısıra, nekrozlu meyvelerden *Diplodina castanea* (1), *Botrytis cinerea* (6), *Aureobasidium* sp. (4), *Alternaria alternata* (2), *Alternaria tenuissima* (1), *Penicillium* spp. (19), *Trichoderma* sp. (12), *Cladosporium* sp. (2), *Cylindrocarpon* sp. (2), *Mucor* sp. (10), *Rhizopus stolonifer* (5) olmak üzere 11 fungus izole edilmiş ve bakteriyel gelişmeler tespit edilmiştir. Semptomsuz meyvelerde ise *G. smithogilyi* (5), *Penicillium* sp. (9), *Trichoderma* sp. (6), *Mucor* sp. (3) ve bakteriyel gelişmeler tespit edilmiştir. Meyvelerden izole edilen *G. smithogilyi*, *D. castanea*, *B. cinerea*, *Cladosporium* sp. ve *Penicillium* sp. olmak üzere 5 türün patojenitesi yapılmış olup, meyvede patojen olduğu saptanmıştır. *Penicillium* sp. diğer türlere göre az da olsa patojenite göstermiştir. Semptomsuz meyveden yapılan fungus izolasyonunda ise en sık tespit edilen *Penicillium* sp. (9) olmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Castanea sativa*, meyve çürüklüğü, fungal flora

Cite as: Çakar D. & Akıllı Şimşek S. (2023). Role of the fungal flora on kernel rot of chestnuts. International Journal of Agriculture and Wildlife Science. 9(2), 143-152. doi: 10.24180/ijaws.1252736

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Lecturer Dr. Deniz Çakar, Central Research Laboratory Application and Research Center, Çankırı Karatekin University, Çankırı 18100, Turkey, denizcakarr86@gmail.com (Corresponding author)

² Prof. Dr. Seçil Akıllı Şimşek, Department of Biology, Faculty of Sciences, Çankırı Karatekin University, Çankırı 18100, Turkey, secilakilli@gmail.com

INTRODUCTION

Sweet chestnut or European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) not only grows in about 81.232 ha as a forest tree but is also grown as a fruit tree in Turkey (OGM, 2020). According to the FAO statistics, Turkey takes the fourth place on chestnut fruit production in the world (FAOSTAT D, 2023). Chestnut is a tree with multipurpose use and along with its edible fruits it has a wide range of beneficial uses such as timber, coppice, wood, honey production, etc. (Conedera et al., 2016).

Along with serious pests and diseases occurring on chestnut trees, fruit rots have also attracted attention of the researchers recently (Sieber et al., 2007) and *Ciboria batschiana* (Zopf) N.F was reported as the main causal agent of black fruit rot up to 2000s (Vettraino et al., 2005; Blaiotta et al., 2014).

After 2000s, an increase on the chestnut fruit rot in Europe and Australasia was observed by the growers and *Gnomoniopsis smithogilvyi* Tamietti (Synonym: *Gnomoniopsis castaneae*) (*Gnomoniaceae*, *Diaporthales*) was reported as the main cause of fruit rot (Smith and Agri, 2008; Gentile et al., 2009; Visentin et al., 2012; Tamietti, 2016). *Gnomoniopsis smithogilvyi* was found to cause necrosis on the endosperm and embryos of the fruits and described as the causal agent of brown rot on chestnut fruit (Shuttleworth et al., 2012a, 2015). In addition to *G. smithogilvyi*, other fungi such as *Phomopsis viterbensis*, *P. castanea*, *P. endogena*, *Phoma endogena*, *Gnomonia pascoe*, *Dendrostoma castaneum* were also recovered from chestnut fruits having brown rots (Maresi et al., 2013; Jaklitsch and Voglmayr, 2019).

Many other fungi were also mentioned to cause chestnut fruit rot. Using 350 fruits, Overy et al. (2003), isolated three mycotoxin-producing *Penicillium* spp., *Penicillium glabrum*, *P. crustosum*, and *P. discolor* as the dominant fungi in Canada while *Ciboria bastiana*, *Penicillium* sp., *Mucor hiemalis* were the prevailing species in Switzerland (Jermini et al., 2006). In China, Xiao-qing et al. (2009) determined 13 fungi; *Alternaria* sp., *Aureobasidium* sp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis* sp., *Trichothecium* sp., *Fusarium* sp., *Fusicoccum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Mucor* sp., and *Rhizopus* sp. on the fruits with and without decay symptoms and four of them; *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Fusicoccum* sp. and *Trichothecium* sp. produced decay when inoculated on the intact fruits. Similar fungi; *Acrospeira mirabilis*, *Botryotinia fuckeliana*, *Botryosphaeria ribis*, *Coniophora puteana*, *Gibberella* sp., *Penicillium chrysogenum*, *P. griseofulvum*, *P. expansum*, and *Sclerotinia sclerotiorum* were also determined on chestnut fruits in Michigan (Donis-González et al., 2016). Apart from the above-mentioned fungi, *Colletotrichum acutatum* was detected from the chestnut fruits having pink discolorations (Gaffuri et al., 2017).

Gnomoniopsis smithogilvyi was admitted as the main agent of brown rots of chestnut fruits in Europe, Australia, and New Zealand by many authors (Shuttleworth et al., 2012a, 2012b; Visentin et al., 2012; Dennert et al., 2015; Lione et al., 2015; Tziros, 2018; Aguín-Casal et al., 2022) and it was also isolated from various trees belonging *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Oleaceae* and *Pinaceae* including *Corylus avellana* L. (Linaldeddu et al. 2016), *Fraxinus ornus* L., *Quercus cerris* L., *Pinus pinaster* Aiton (Fernandez et al. 2017; Lione et al. 2019), and *Quercus ilex* L. (Shuttleworth et al., 2012b). Besides fruit rot, it was reported to cause cankers on chestnut and hazelnut, galls on chestnut, and necrosis on the leaves of chestnut and oak (Magro et al., 2010; Linaldeddu et al., 2016; Pasche et al., 2016; Jiang et al., 2021). The pathogen was also determined on chestnut fruit and boxwood trees in Turkey (Akıllı Şimşek et al., 2019; Çakar and Şimşek, 2022).

The aim of this work was; (1) to determine fungal flora on chestnut fruits collected from Düzce province, (2) to find out their roles on fruit rot.

MATERIAL AND METHOD

Sampling

Total of 150 chestnut fruits were collected from the ground under the 15 selected chestnut trees, 1-2 km apart, being 10 fruit from each, situated at forests administered by Düzce Forest Management Directorate of Bolu Regional Forestry Directorate situated at 40°47'47.92" North, 31°20'22.34" East coordinates.

Method**Isolation of Fungi from Nuts**

The chestnut fruits were first examined under a stereomicroscope, and 98 fruits having necrosis and 52 asymptomatic ones were disinfected in 0.5% sodium hypochlorite (NaOCl) for 4 min. Fruit tissues from each of the necrotic fruits about 0.5 × 0.5 cm containing the necrotic and intact areas were dissected, plated on potato dextrose agar (PDA; Difco, Sparks, MD, USA, adjusted to pH 4.5 by 125 µL L⁻¹ lactic acid) and incubated at 25 °C for 4 days. Samples at the same size were taken from the centres of asymptomatic fruits and treated as mentioned above. Incubated plates were examined at 2-8 days intervals and mycelial tips from the growing fungi were removed and plated on PDA. The obtained fungal cultures were identified based on their morphological aspects described by the references (Barnet and Hunter, 1972; Sutton, 1980) and stored in the laboratory at the Biology Department, Science Faculty of Çankırı Karatekin University.

DNA Isolation

DNA isolations were performed by using ten days old fungal cultures grown on PDA and employing DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA) according to the manufacturer directions. The obtained DNA was dissolved in ultra-pure water and stored 20 °C.

PCR Studies

For molecular identification of *G. smithogilvyi*, *Diplodina castanea*, *Penicillium* sp., *B. cinerea*, and *Cladosporium* sp. primer sets of ITS1/ITS4 (White et al., 1990) for Internal Transcribed Space region, Bt2a/Bt2b (Glass and Donaldson, 1995) for β-tubulin (*tub2*), EF-728F/1199R (Walker et al., 2010) for the translation elongation factor 1 α (*TEF*) were used for DNA amplification of the relevant gene regions. PCR was carried out in 50 µL reaction mix of 40 ng template DNA, 1× FirePol PCR Buffer BD (0.8 M Tris-HCl, 0.2 M (NH₄), 1 µL (10 µM) for each primer, 200 µM dNTPs, 1 unit of FIREPol *Taq* DNA polymerase (Solis Biodyne, Tartu, Estonia) by using T100 thermal cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). The reaction was started by denaturation at 94 °C for 5 min, run 45 cycle as denaturation at 94 °C for 45 sec, annealing at varying temperatures (52, 53, 55 °C for ITS, TUB, TEF, respectively) depending on the primer for 45 sec, extension at 72 °C for 90 s, and final extension at 72 °C for 6 min.

PCR products were run in 1.4% agarose gel in 10 µL 1× TAE buffer, stained with ethidium bromide, and visualized under UV by using trans illuminator (Vilber, Deutschland, Eberhardzell, Germany). Row DNA sequence data was processed by using MEGA X software (Kumar et al., 2018) and the obtained sequences were blasted into GeneBank for comparisons.

Pathogenicity of Fungi on Nuts

In order to determine the role of five fungi on fruit decay, one isolate from each of them was used as; *G. smithogilvyi* Gc_01 accessed to GenBank as ON326601 (ITS), ON337137 (TUB), ON337136 (TEF); *D. castanea* Dc_85 accessed to GenBank as OP837526 (ITS); *Penicillium* sp. Pc_70 accessed to GenBank as OQ354382 (ITS); *B. cinerea* Bc_31 accessed to GenBank as OQ354380 (ITS); *Cladosporium* sp. C_53 accessed to GenBank as OQ354381 (ITS).

A sufficient number of asymptomatic chestnut fruits for the inoculation of 5 fungi were selected and first soaked in 75% alcohol for 1 min, then 1.25% sodium hypochlorite for 3 min and later on rinsed with sterile water for 2 min to disinfect them. Wells, seven mm in diameter were drilled on the disinfected fruits and the outer and inner skins were removed to see the interior fruit tissue to check their health status. Ten asymptomatic fruits were inoculated by each of the five fungi by placing culture disks taken from the peripheries of young cultures on to the wells and covering the inoculation point with a damp cotton wool, then sealing the inoculation points with Parafilm (Jiang and Tian, 2019) (Figure 1 a, b, c, d). The inoculated fruits were kept at 25 °C in dark and the decay was evaluated for 15 days by measuring the necrotic areas

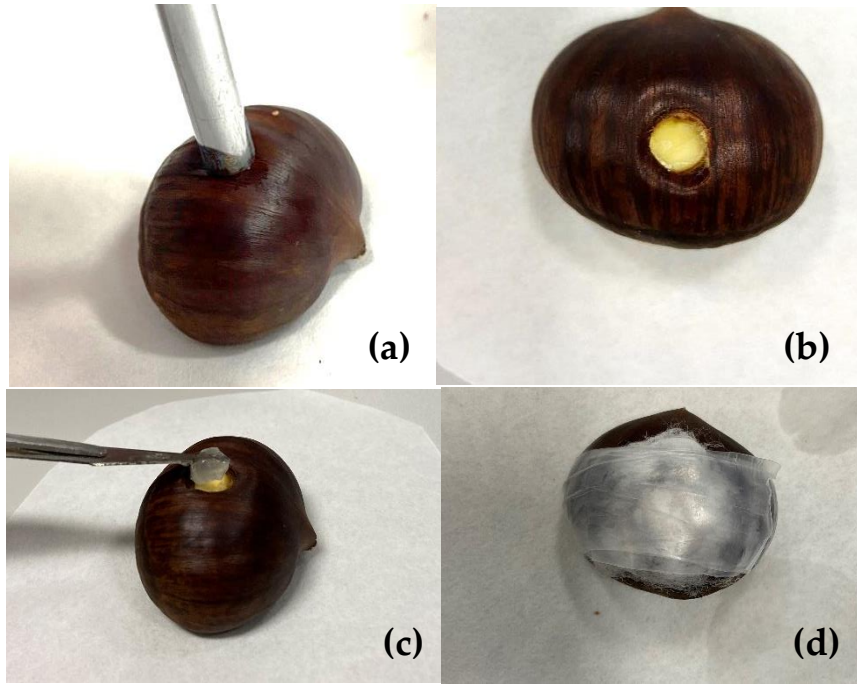


Figure 1. The pathogenicity test on nuts, a) drilling a well on the skin, b) healthy looking inner tissue of a nut c) placing the fungal culture on the wells d) wrapping the wounded nut with moist cotton and Para film.
 Şekil 1. Meyvelerde patojenite testi, a) kabukta delik açılması b) bir meyvenin sağlıklı görünen iç dokusu c) deliklere fungal kültürün yerleştirilmesi d) yaralanmış meyvenin, nemli pamuk ve parafilm ile sarılması.

RESULTS AND DISCUSSION

Disease Symptoms

Necrosis in various colours; brown, white, green, cream and black, and sizes were seen on 98 of the 150 nuts (Table 1, Figure 2), and no symptoms were observed on the remaining 52 nuts. Almost two-third of the chestnut nuts collected from forests of Düzce province was found to have various types of necrosis, and twelve fungi were isolated from these fruits. Some of the fungi, such as *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* spp., and *Rhizopus* sp. were also found by the other researchers previously (Akıllı et al., 2011; Dennert et al., 2015; Shuttleworth et al., 2015). The sizes and colours of chestnut fruit decay showed wide variations and mainly observed as brown, brown-black, green, cream and white discolorations. *Gnomoniopsis smithogilvyi* was the dominant fungus on fruit decay and it was generally isolated from brown and white rots. *Penicillium* sp. were the second most frequently recovered fungus and occurred on all types of decays.

Table 1. Symptoms observed on rotten fruits and the fungi obtained from them.

Çizelge 1. Meyvelerde görülen çürüme belirtileri ve bunlardan elde edilen etmenler.

Necrosis symptoms	The fungi recovered
Brown rot	<i>Gnomoniopsis smithogilvyi</i> , bacteria, <i>Penicillium</i> spp., <i>Rhizopus stolonifer</i>
Green rot	<i>Trichoderma</i> sp., <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Aureobasidium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.
Brown to black rot	<i>Gnomoniopsis smithogilvyi</i> , <i>Diplodina castanea</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Trichoderma</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp.
White rot	<i>Gnomoniopsis smithogilvyi</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Cylindrocarpon</i> sp.
Cream colour decay	Bacteria, <i>Gnomoniopsis smithogilvyi</i> , <i>Aureobasidium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.

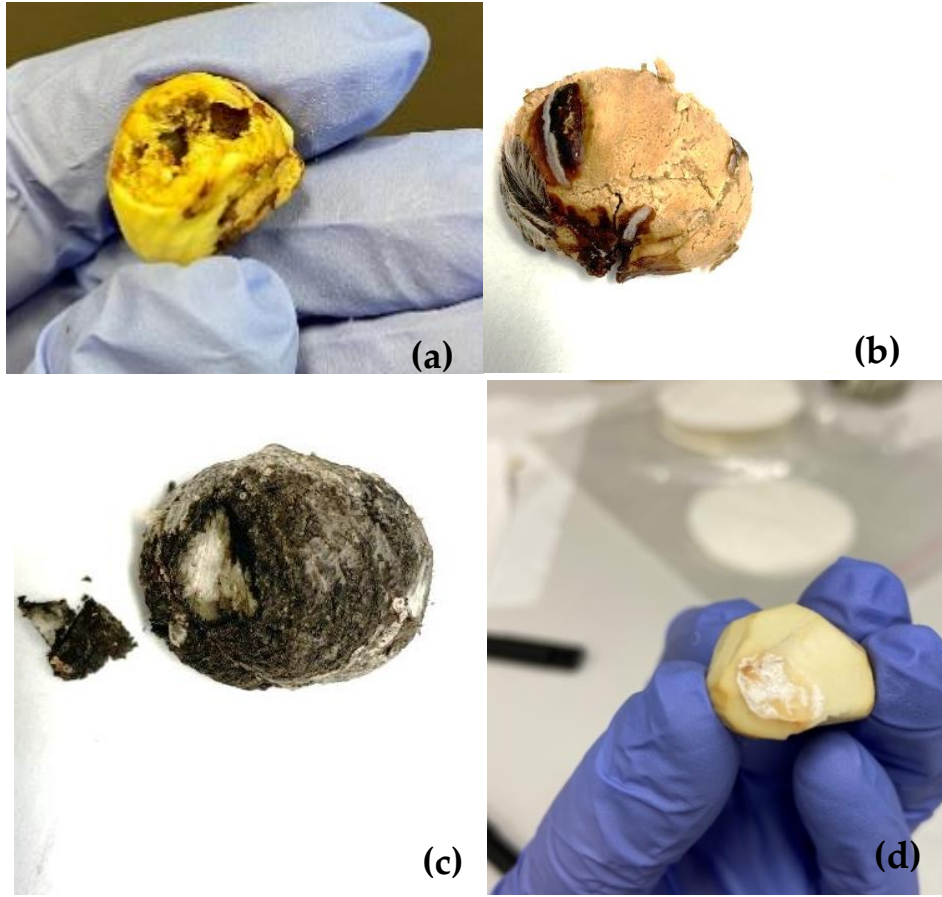


Figure 2. Symptoms caused by *Gnomoniopsis smithogiloyi* on the fruits; brown rot and cream colour softening (a, b) green decay and white rot caused by *Penicillium* sp. (c, d).

Şekil 2. *Gnomoniopsis smithogiloyi*'nin meyve üzerinde oluşturduğu kahverengi çürüklük ve bej renkli yumuşama (a, b), *Penicillium* sp.'nin neden olduğu yeşil çürüme ve beyaz çürüme(c, d).

Fungi Obtained from Necrotic Kernels

The twelve fungi obtained from 98 necrotic fruits are as following with their percentages; *G. smithogiloyi* (24), *D. castanea* (1), *B. cinerea* (6), *Aureobasidium* sp. (4), *A. alternata* (2), *A. tenuissima* (1), *Penicillium* spp. (19), *Trichoderma* sp. (12), *Cladosporium* sp. (2), *Cylindrocarpon* sp. (2), *Mucor* sp. (10), *R. stolonifer* (5), and bacterial growth (5). *Gnomoniopsis smithogiloyi* was generally isolated individually but sometimes it occurred simultaneously with *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. as mentioned by the other authors, the most widely encountered fruit rot agent was *G. smithogiloyi* in this study (Dennert et al., 2015; Visentin et al., 2012). *Diplodina castanea* has not been reported from chestnut fruits so far but from other tissues (Adamčíková et al., 2013). Occurrence on fruit rots is the first report for Turkey.

Identification of some of the well-known fungi were done by their morphological characteristics described in the related sources and internet. Identification of *G. smithogiloyi*, *D. castanea*, *Penicillium* sp., *B. cinerea*, and *Cladosporium* sp. was also confirmed by molecular tools. A BLASTn search of the sequences *G. smithogiloyi* [GenBank accession nos. ON326601 (ITS), ON337137 (*tub-2*), ON337136 (*TEF*)] showed 99.82, 100.00, and 100.00% nucleotide identity with the ITS (Accession no. NR_166040), *tub-2* (Accession no. KX929733), and *TEF* (Accession no. LN999975); *D. castanea* [OP837526 (ITS)] displayed 99.79% nucleotide homology with the ITS (KX929760). *B. cinerea* [OQ354380 (ITS)] displayed 99.80% nucleotide homology with the ITS (MK748141). *Cladosporium* sp. [OQ354381 (ITS)] displayed 100% nucleotide homology with the ITS (HG008746). *Penicillium* sp. [OQ354382 (ITS)] showed 100% nucleotide homology with the ITS (MK775828).

Gnomoniopsis smithogiloyi first grew pale brown on the culture plates, after, on the 10. days the colour became darker brown with the formation of intensive acervuli (Figure 3a). The conidia were hyaline, fusiform, one-celled and $5.0\text{--}7.5 \times 1.7\text{--}3.2 \mu\text{m}$ (average $5.8 \times 2.3 \mu\text{m}$) ($n=30$) (Figure 3b). Colonies of *Diplodina castanea* were dark brown on the 10. day with undulate margins (Figure 3c), having guttulate, ellipsoid, hyaline, fusiform, dull brownish-grey conidia of $6.0\text{--}12.2 \times 2.1\text{--}3.7 \mu\text{m}$ (average $9.2 \times 2.7 \mu\text{m}$) ($n=30$) dimensions (Figure 3d).

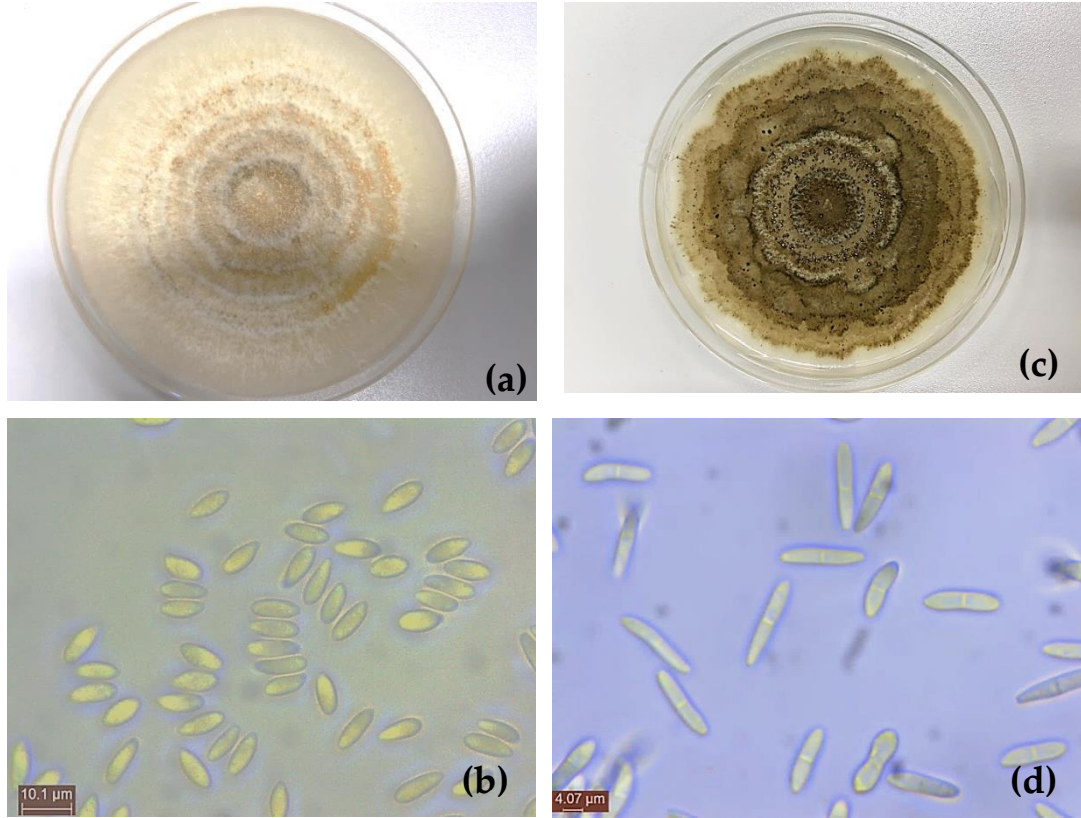


Figure 3. Growth of of *Gnomoniopsis smithogiloyi* on PDA medium (a), Its conidia (b), Growth of *Diplodina castanea* on PDA (c), Its conidia (d).

Şekil 3. Potato dekstroze agar ortamında gelişen (a) *Gnomoniopsis smithogiloyi*'nin (c) *Diplodina castanea* morfolojik görüntüsü, b) *G. smithogiloyi*, (d) *D. castanea*'nın konidiumları.

Fungi Obtained from Symptomless Nuts

From the samples taken from the interior parts of the asymptomatic nuts, four fungi; *G. smithogiloyi*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Mucor* sp. and bacterial growth were isolated at 5, 9, 6, 3, and 4 of the samples respectively. *Gnomoniopsis smithogiloyi* which is admitted to be endophytic on chestnuts (Dennert et al., 2015) was also recovered from asymptomatic fruits along with *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., and *Mucor* sp. The presence of *G. smithogiloyi* in asymptomatic fruits implies that symptomless fruit could develop fruit rot during storage.

Pathogenicity of The Fungi

The isolates of *G. smithogiloyi* Gc_01, *D. castanea* Dc_85, *B. cinerea* Bc_31, and *Cladosporium* sp. C_53 recovered from the necrotic fruits produced an average of 1.7, 1.5, 2, and 2 cm necrosis on the fifteenth days of the inoculations (Figure 4a, b, c, d). *Penicillium* sp. Pc_70 isolate produced smaller decays, an average of 0.7 cm. on the 15. days then the other isolates tested. No rot was observed on the control fruits. When inoculated on to the intact chestnut fruits, *G. smithogiloyi* and *D. castanea* produced rapid decay. The other fungi also produced necrosis on the intact fruits, *Penicillium* sp. being the weakest, as mentioned by Liang and Wang, 2003.

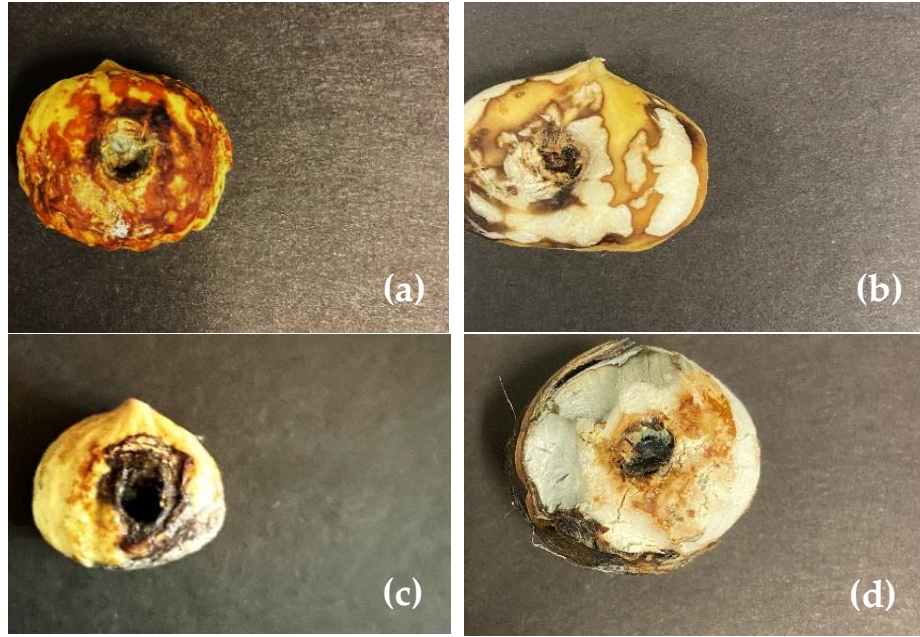


Figure 4. Decay formed by (a) *Gnomoniopsis smithogilvyi*, (b) *Botrytis cinerea* (b), *Diplodina castanea* (c) *Cladosporium* sp. (d) isolates of Gc_01, Dc_85, Bc_31, and C_53 respectively on the 15. days on the intact chestnut fruits.

Şekil 4. Patojenite testlerinde *Gnomoniopsis smithogilvyi* Gc_01 (a,) *Botrytis cinerea* Bc_31 (b), *Diplodina castanea* Dc_85, (c) ve *Cladosporium* sp. C_53 (d) izolatlarının sağlam kestane meyvelerinde oluşturduğu çürümeler.

CONCLUSION

Chestnut is an economically important tree due to its multiple benefits for edible fruits, nectar source for honey production and durable wood. Like the other vegetative parts, chestnut fruits also encounter various damage from of diseases and pests. Together with the fruit pests, significant fruit damage is also caused by fungi (Sieber et al., 2007).

As mentioned by the other authors; the most widely encountered fruit rot agent was *G. smithogilvyi* in this study, but other pathogens such as, *Phomopsis viterbensis*, *P. castanea*, *P. endogena*, *Phoma endogena*, *Dendrostoma castaneum*, *Gnomonia pascoe* have also been recorded from decaying chestnut fruits by them (Dennert et al., 2015; Lione et al., 2015; Visentin et al., 2012). In this study, the other species such as *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp., *D. castanea*, and *Penicillium* sp. were also found as pathogens of chestnut nut.

Gnomoniopsis smithogilvyi was also reported from asymptomatic leaves, branches, symptomless fruits and dead plant materials (Crous et al., 2012; Visentin et al., 2012). Its endophytic nature was also found out by our work. Recently, this pathogen has also been found to be a pathogen of chestnut wood (Dar and Rai, 2013; Pasche et al., 2016; Lewis et al., 2017; Trapiello et al., 2018; Lione et al., 2019). Besides fruit rot, it was reported to cause cankers on chestnut and hazelnut, galls on chestnut, and necrosis on the leaves of chestnut and oak (Magro et al., 2010; Pasche et al., 2016; Linaldeddu et al., 2016; Jiang et al., 2021). The pathogen was also determined on chestnut fruit and boxwood trees previously in Turkey (Akıllı Şimşek et al., 2019; Çakar and Şimşek, 2022). Its role on other forest trees should be taken into consideration for the next studies.

Authors claimed that rate of the chestnut fruit rots would increase during the storage period (Maresi et al., 2013; Dennert et al., 2015). Ruocco et al. (2016) tested a new strategy to control fruit rot of chestnuts. They applied the enzyme of *T. harzianum* Rifai strain T22, disrupting the cell wall, to the heated water where the fruits were kept 45-50°C in hot water and then 15-18°C in cold water for 50 min and a found significant reduction on the rate of fruit rot. Although some treatments, such as fungicide applications and organic fertilizers, are proposed to control fruit rot (Lione et al., 2019), some biocontrol methods deserve to be tested since Pasche et al. (2016) obtained hopeful results by the treatment of *T. atroviride* and *Bacillus*

amyloliquefaciens. This method was carried out as preventive biocontrol experiments by using chestnut scion. The endophytic and opportunistic pathogenic fungus *G. smithogilyvi* was not found on chestnut scions treated with *B. amyloliquefaciens*. With a similar experiment conducted by *T. atroviride* the result was similar. The entophytic behaviour of these biocontrol agents inhibited the growth of *G. Smithogilyvi*.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

Deniz Çakar: Conceptualization, Methodology, Investigation, Molecular analysis, **Seçil Akıllı Şimşek:** Conceptualization, Methodology, Investigation.

ACKNOWLEDGMENT

We are thankful to Dr. Salih Maden who suggest to work with his opinions and suggesstions. We thank to the staff of General Directory of Forestry. We are also thank to Mine Konuk who is the technician of Western Blacksea Forestry Research Institute for help with providing samples.

REFERENCES

- Adamčíková, K., Juhásová, G., Kobza, M., & Ondrušková, E. (2013). Diversity of microfungi on branches of *Castanea sativa* in Slovakia. *Polish Botanical Journal*, 58, 741-746. <https://doi.org/10.2478/pbj-2013-0049>.
- Aguín-Casal, O.; Rial-Martínez, C.; Piñón-Esteban, P.; Sainz, M. J.; Regueira-Paz, N.; Mansilla Vázquez, J. P.; & Salinero-Corral, C. (2022). First report of *Gnomoniopsis smithogilyvi* causing chestnut brown rot on nuts and burrs of sweet chestnut in Spain. *Plant Disease* ja. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0322-PDN>.
- Akıllı, S., Katırcıoğlu, Y. Z., & Maden, S. (2011, Haziran 14-17). *Kestane Tohumlarının Fungal Florası Üzerinde Çalışmalar*. IV. Tohumculuk Kongresi, Samsun, Türkiye.
- Akıllı Şimşek, S., Katırcıoğlu, Y. Z., Çakar, D., Rigling, D., & Maden, S. (2019). Impact of fungal diseases on common box (*Buxus sempervirens* L.) vegetation in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 153(4), 1203-1220. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01636-4>.
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company. Minnesota.
- Blaiota, G., Di Capua, M., Romano, A., Coppola, R., & Aponte, M. (2014). Optimization of water curing for the preservation of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) and evaluation of microbial dynamics during process. *Food Microbiology*, 42, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.009>.
- Conedera, M., Tinner, W., Krebs, P., de Rigo, D., & Caudullo, G. (2016). *Castanea sativa* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species* (pp. e0125e0+). Publication Office of the European Union.
- Crous, P. W., Summerell, B. A., Shivas, R. G., Burgess, T. I., Decock, C. A., Dreyer, L. L., Granke, L. L., Guest, D. I., Hardy, G. E. S. T. J., Hausbeck, M. K., Hüberli, D., Jung, T., Koukol, O., Lennox, C. L., Liew, E. C. Y., Lombard, L., McTaggart, A. R., Pryke, J. S., Roets, F., Saude, C., Shuttleworth, L. A., Stukely, M. J. C., Vánky, K., Webster, B. J., Windstam, S. T., & Groenewald, J. Z. (2012). Fungal planet description sheets: 107-127. *Persoonia*, 28, 138-182. <https://doi.org/10.3767/003158512X652633>.
- Çakar, D., & Şimşek, S. A. (2022). First report of *Gnomoniopsis smithogilyvi* causing nut rot on *Castanea sativa* in Turkey. *New Disease Reports*, 46(1), e12105. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12105>.
- Dar, M. A., & Rai, M. (2013). Biological and Phylogenetic Analyses, Evidencing the Presence of *Gnomoniopsis* sp. in India, Causing Canker of Chestnut Trees: a New Report. *Indian Forester*, 139(1), 37-42.
- Dennert, F., Broggin, G., Gessler, C., & Storari, M. (2015). *Gnomoniopsis castanea* is the main chestnut nut rot agent in Switzerland. *Phytopathologia Mediterranea*, 54(2), 199-211. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14712.
- Donis-González, I. R., Guyer, D. E., & Fulbright, D. W. (2016). Quantification and identification of microorganisms found on shell and kernel of fresh edible chestnuts in Michigan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4514-4522. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7667>.
- FAOSTAT D (2023). Food and agriculture organization of the United Nations. Statistical database. <http://www.fao.org/faostat>. [Access date: February 10, 2023].
- Fernandez-Conradi, P., Borowiec, N., Capdevielle, X., Castagneyrol, B., Maltoni, A., Robin, C., Selvi, F., Halder, I. V., Vétillard, F., & Jakcel, H. (2017). Plant neighbour identity and invasive pathogen infection affect associational resistance to an invasive gall wasp. *Biological Invasions*, 20, 1459-1473. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1637-4>.
- Gaffuri, F., Longa, C. M. O., Turchetti, T., Danti, R., & Maresi, G. (2017). 'Pink rot': infection of *Castanea sativa* fruits by *Colletotrichum acutatum*. *Forest Pathology*, 47(2), e12307. <https://doi.org/10.1111/efp.12307>.

- Gentile, S., Valentino, D., Visentin, I., & Tamietti, G. (2009). *Discula pascoe* infections of sweet chestnut fruits in North-West Italy. *Australian Nutgrower*, 23, 23-25.
- Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1323-1330.
- Jaklitsch, W. M., & Voglmayr, H. (2019). European species of *Dendrostoma* (Diaporthales). *Myckeys*, 59, 1-26. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.59.37966>.
- Jermi, M., Conedera, M., Sieber, T.N., Sassella, A., Schäfer, H., Jelmini, G. et al. (2006) Influence of fruit treatments on perishability during cold storage of sweet chestnuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 877-885. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2428>.
- Jiang, N., & Tian, C. (2019). An emerging pathogen from rotted chestnut in China: *Gnomoniopsis daii* sp. nov. *Forests*, 10, 1016. <https://doi.org/10.3390/f10111016>.
- Jiang, N., Voglmayr, H., Bian, D. R., Piao, C. G., Wang, S. K., & Li, Y. (2021). Morphology and phylogeny of *Gnomoniopsis* (Gnomoniaceae, Diaporthales) from fagaceae leaves in China. *Journal of Fungi*, 7(10), 792. <https://doi.org/10.3390/jof7100792>.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analyses across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.
- Lewis, A., Gorton, C., Rees, H., Webber, J., & Pérez-Sierra, A. (2017). First report of *Gnomoniopsis smithogilvyi* causing lesions and cankers of sweet chestnut in the United Kingdom. *New Disease Reports*, 35, 20. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2017.035.020>.
- Liang, L., & Wang, G. (2003). Studies on the Varieties and Pathogenic Ability of the Pathogenic Fungi of Chinese Chestnut Seed in Different Production Areas of China. *Forest Research, Beijing*, 16(3), 284-288.
- Linaldeddu, B. T., Deidda, A., Scanu, B., Franceschini, A., Alves, A., Abdollahzadeh, J., & Phillips, A. J. L. (2016). Phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae*, *Diatrypaceae* and *Gnomoniaceae* associated with branch diseases of hazelnut in Sardinia (Italy). *European Journal of Plant Pathology*, 146(2), 259-279. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0912-z>.
- Lione, G., Giordano, L., Sillo, F., & Gonthier, P. (2015). Testing and modelling the effects of climate on the incidence of the emergent nut rot agent of chestnut *Gnomoniopsis castanea*. *Plant Pathology*, 64(4), 852-863. <https://doi.org/10.1111/ppa.12319>.
- Lione, G., Danti, R., Fernandez-Conradi, P., Ferreira-Cardoso, J. V., Lefort, F., Marques, G., Meyer, J. B., Prospero, S., Radócz, L., Turchetti, T., Vettraino, A. M., & Gonthier, P. (2019). The emerging pathogen of chestnut *Gnomoniopsis castanea*: the challenge posed by a versatile fungus. *European Journal of Plant Pathology*, 153(3), 671-685. <https://www.dora.lib4ri.ch/wsl/islandora/object/wsl:18430>.
- Magro, P., Speranza, S., Stacchiotti, M., Martignoni, D., & Paparatti, B. (2010). *Gnomoniopsis* associated with necrosis of leaves and chestnut galls induced by *Dryocosmus kuriphilus*. *Plant pathology*, 59(6), 1171-1171. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02336.x>.
- Maresi, G., Longa, O., & Turchetti, T. (2013). Brown rot on nuts of *Castanea sativa* Mill: an emerging disease and its causal agent. *iForest*, 6(5), 294-301. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02336.x>.
- OGM, (2020). *Türkiye Orman Varlığı*. Orman Genel Müdürlüğü. <https://www.ogm.gov.tr/tr/ormanlarimiz-sitesi/TurkiyeOrmanVarligi/Yayinlar/2020%20T%C3%BCrkiye%20Orman%20Varl%C4%B1%C4%9F%C4%B1.pdf>. [Access date: February 21, 2023].
- Overy, D. P., Seifert, K. A., Savard, M. E., & Frisvad, J. C. (2003). Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts. *International Journal of Food Microbiology*, 88(1), 69-77. [10.1016/s0168-1605\(03\)00086-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00086-2).
- Pasche, S., Calmin, G., Auderset, G., Crovadore, J., Pelleteret, P., Mauch-Mani, B., Barja, F., Paul, B., Jermi, M., & Lefort, F. (2016). *Gnomoniopsis smithogilvyi* causes chestnut canker symptoms in *Castanea sativa* shoots in Switzerland. *Fungal Genetics and Biology*, 87, 9-21. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2016.01.002>.
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Lombardi, N., Varlese, R., Aliberti, A., Carpenito, et al. (2016). New tools to improve the shelf life of chestnut fruit during storage. *Acta Horticulturae*, 1144, 309-316. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1144.46>.
- Sieber, T., Jermi, M., & Conedera, M. (2007). Effects of the harvest method on the infestation of chestnuts (*Castanea sativa*) by insects and moulds. *Journal of Phytopathology*, 155, 497-504. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01269.x>.
- Shuttleworth, L. A., Liew, E. C. Y., & Guest, D. I. (2012a). Survey of the incidence of chestnut rot in south-eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, 42(1), 63-72. <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0170-2>.
- Shuttleworth, L. A., Guest, D. I., & Liew, E. C. Y. (2012b). Fungal planet description sheet 108: *Gnomoniopsis smithogilvyi* L.A. Shuttleworth, E.C.Y. Liew & D.I. Guest, sp. nov. *Persoonia*, 28, 142-143. <https://doi.org/10.3767/003158512X652633>.

- Shuttleworth, L. A., Walker, D. M., & Guest, D. I. (2015). The chestnut pathogen *Gnomoniopsis smithogiloyi* (Gnomoniaceae, Diaporthales) and its synonyms. *Mycotaxon*, 130(4), 929-940. <http://dx.doi.org/10.5248/130.929>.
- Smith, H. C., & Agri, M. (2008). The life cycle, pathology and taxonomy of two different nut rot fungi in chestnut. *Australian Nutgrower*, 22, 11-15.
- Sutton, B. C. (1980). The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. CMI, Kew, 696.
- Tamietti, G. (2016). On the fungal species *Gnomoniopsis castaneae* ("castanea") and its synonym *G. smithogiloyi*. *Journal of Plant Pathology*, 98, 189-190. <http://dx.doi.org/10.4454/JPP.V98I2.001>.
- Trapiello, E., Feito, I., & González, A. J. (2018). First report of *Gnomoniopsis castaneae* causing canker on hybrid plants of *Castanea sativa* x *C. crenata* in Spain. *Plant Disease*, 102(5), 1040. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1874-PDN>.
- Tziros, G. (2018). First report of nut rot caused by *Gnomoniopsis castaneae* on *Castanea sativa* in Greece. *Journal of Plant Pathology*, 101, 211. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0161-4>.
- Vettraino, A. M., Paolacci, A., & Vannini, A. (2005). Endophytism of *Sclerotinia pseudotuberosa*: PCR assay for specific detection in chestnut tissues. *Mycological Research*, 109(1), 96-102. <https://doi.org/10.1017/S0953756204001583>.
- Visentin, I., Gentile, S., Valentino, D., Gonthier, P., Tamietti, G., & Cardinale, F. (2012). *Gnomoniopsis castanea* sp. nov. (Gnomoniaceae, Diaporthales) as the causal agent of nut rot in sweet chestnut. *Journal of Plant Pathology*, 94, 411-419. <http://dx.doi.org/10.4454/JPP.FA.2012.045>.
- Walker, D. M., Castlebury, L. A., Rossman, A. Y., Sogonov, M. V., & White, J. F. (2010). Systematics of genus *Gnomoniopsis* (Gnomoniaceae, Diaporthales) based on a three gene phylogeny, host associations and morphology. *Mycologia*, 102 (6), 1479-1496. <http://dx.doi.org/10.3852/10-002>.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18, 315-322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>.
- Xiao-qing, Z., Hai-xia, W., Ling, Q., Su-hua, L., Zheng-ping, L., & Yan-min, W. (2009). Preliminary studies on pathogenic fungi of chestnut fruit rot and its control. *Acta horticulturae*, 844, 83. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.844.10>.



Bolu İlinde Patates Böceği *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'nin Doğal Düşmanları ve Kışlama Özelliklerinin Belirlenmesi*

Determination of Natural Enemies and Overwintering of Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) in Bolu

Sedat Akçın¹  Gülay Kaçar² 

Geliş Tarihi (Received): 15.03.2023

Kabul Tarihi (Accepted): 06.07.2023

Yayın Tarihi (Published): 21.08.2023

Öz: Patates Bolu ilinde en fazla yetiştirilen tarım ürünlerinden biri olup, önemli ana zararlılarından biri Patates böceği *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'dir. Bu çalışmada Patates böceği'nin Bolu ilinde doğal düşmanları ve kışlama özellikleri belirlenmiştir. *Leptinotarsa decemlineata*'nın doğal düşmanları olarak *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) ve *Semiadalia undecimnotata* Schneider (Coleoptera: Coccinellidae) türleri bulunmuştur. Patates böceği'nin laboratuvarında kültüre alınan ergin, larva ve yumurta dönemlerinden herhangi bir parazitoid çıkışı tespit edilememiştir. Çalışmanın ilk yılı kışlama denemelerinde zararlının ergin olarak 11 Ekim 2020 tarihinde kış diyapozuna girdiği, 15 Mayıs 2021 tarihinde kış diyapozundan çıktığı tespit edilmiştir. Bu dönemde pentat hava sıcaklığı ortalaması 15 °C, pentat nisbi nem ortalaması ise %59.32 olarak belirlenmiştir. İkinci yıl zararlının 05 Ekim 2021 tarihinde kış diyapozuna girdiği, 09 Mayıs 2022 tarihinde kış diyapozundan çıktığı tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci yılı ise Patates böceği'nin kış diyapozuna girdiği dönemde pentat hava sıcaklığı ortalaması 10.26 °C, pentat nisbi nem ortalaması ise %75.08 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Patates böceği, kışlama, doğal düşman

&

Abstract: Potato is one of the most grown agricultural products in Bolu province and one of the most important main pests is the potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). In this study, the natural enemies and overwintering characteristics of the Colorado potato beetle were determined in Bolu province. *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) and *Semiadalia undecimnotata* Schneider (Coleoptera: Coccinellidae) species were determined as natural enemies of *L. decemlineata*. No parasitoid species was found in the adult, larva and egg stages of the Colorado potato beetle were cultured in the laboratory. In the overwintering study carried out in the first year of the study, it was determined that the pest entered winter diapause on 11 October 2020, and emerged from winter diapause on 15 May 2021. The potato beetle entered winter diapause, the average pentate air temperature was determined to be 15 °C, and the average pentate relative humidity was 59.32%. In the second year, this pest entered the winter diapause on 05 October 2021, and emerged from winter diapause on 09 May 2022. In the period, the average pentate air temperature was determined as 10.26 °C, and the average pentate relative humidity was 75.08%.

Keywords: Colorado potato beetle, overwintering, natural enemy

Atıf/Cite as: Kaçar G. & Akçın S. (2023). Bolu İlinde Patates Böceği *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'nin Doğal Düşmanları ve Kışlama Özelliklerinin Belirlenmesi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi. 9 (2), 153-161. doi: 10.24180/ijaws.1265774

İntihal-Plagiarizm/Etik-Ethic: Bu makale, en az iki hakem tarafından incelenmiş ve intihal içermediği, araştırma ve yayın etiğine uyulduğu teyit edilmiştir. / This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Sedat Akçın, Bolu Tarım Orman İl Müdürlüğü, Bolu, sedatakcinn@gmail.com

² Prof. Dr. Gülay KAÇAR, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 14030 Bolu, Türkiye, gulaysahan@yahoo.com (Corresponding author)

GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum* L.; Solanales: Solanaceae), buğday, pirinç ve mısırdan sonra en önemli gıda maddesi olarak yer almaktadır (FAO, 2019). Dünya’da Çin, Hindistan, Rusya, Ukrayna ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) sırasıyla en çok patatesin yetiştirildiği ülkeler arasındadır. Türkiye ise 140.766 ha alanda patates üretimi yapmakta olup dünya patates üretiminde 17. sırada bulunmaktadır (FAO, 2019).

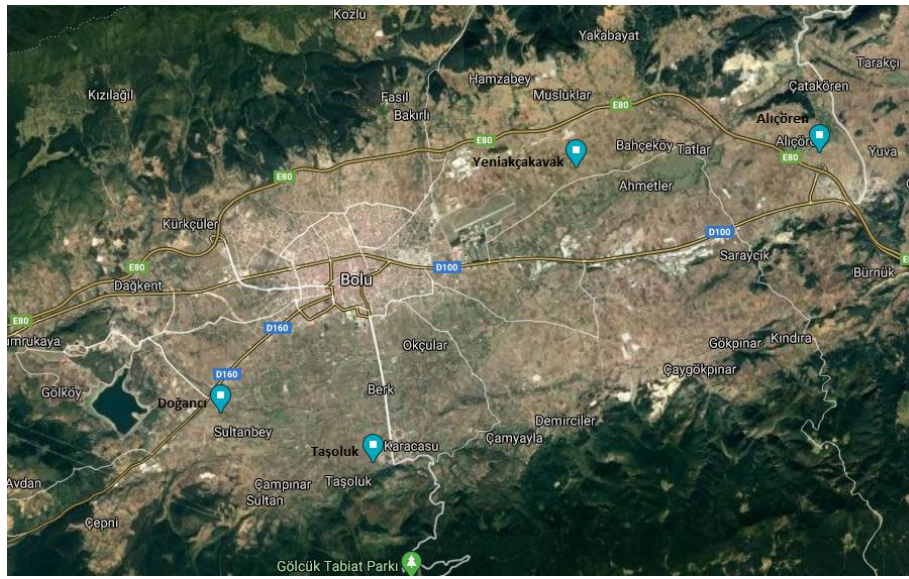
Patates üretiminde ekonomik olarak önemli olan ve verim kayıplarına sebep olan ana zararlılardan biri *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)’dır. Zararlıın konukçuları arasında patates, patlıcan (*Solanum melongena* L.), domates (*Lycopersicon esculentum* M.), tütün (*Nicotiana tabacum* L.) gibi Solanaceae familyasına bağlı kültür bitkilerinin yanı sıra bazı yabancı *Solanum* spp. türleri bulunmaktadır (Kekillioğlu ve Yılmaz, 2018). *Leptinotarsa decemlineata* larva ve ergin bireyleri patates bitkisinin yapraklarını oburca tüketerek bitkinin en önemli işlevi olan fotosentezi gerçekleştiren yapraklarından yoksun bırakırlar. Zamanla gelişme geriliğine, ileriki safhalarda bitkide çalı formuna sebep olurlar. Patates böceği’nin yoğun zararlılarda %20-100 arası verim kaybına neden olabileceği belirtilmiştir (Oerke vd., 1994; Alyokhin, 2009; Wang vd., 2017). Zararlı yumurtalarını yaprakların altına bırakır, yumurtadan çıkan bireyler dört larva dönemi geçirdikten sonra toprağın altında pupa olurlar (Atak, 1973). Gürkan ve Boşgelmez (1984) zararlıın kışlama tarihinin eylül ayının ikinci ve üçüncü haftalarına denk geldiğini ve iki sene boyunca sürdürülen kışlama çalışmasında zararlıın kışlamaya, toprak sıcaklığının 13.4 °C ve 14 °C olduğu dönemde girdiğini belirlemişlerdir. Biever ve Chauvin (1990) ABD’nin Washington eyaletinde *L. decemlineata*’nın %16-21 kadarının iki kış periyodu geçirdikten sonra; %2 kadarının ise 3 kış periyodu geçirdikten sonra kışlama döneminden uyandığını belirlemişlerdir. Tauber vd. (1994) ABD’nin New York eyaletinde *L. decemlineata*’nın kışlama döneminden çıkışında uygun toprak sıcaklığı sağlandıktan sonra, toprakta bulunan nemin davranışsal bir uyarıcı olarak görev yaptığını ve toprak nemindeki azalmanın kışlama dönemindeki *L. decemlineata*’nın çıkışlarını azaltabileceğini ya da durdurabileceğini belirlemişlerdir.

Zararlıya karşı pek çok mücadele yöntemi uygulanmaktadır. Zararlıyla mücadelede başlıca mücadele yöntemi kültürel, mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleridir (Anonim, 2017; Yiğit vd., 2022). Zararlı böcek türlerini kontrol etmede veya mücadelede Biyolojik mücadele çalışmalarında önemli aktörler olan doğal düşmanların rolü büyüktür (Kılınçer vd., 2010). Patates böceği’nin çok sayıda doğal düşmanı tespit edilmiştir. Zararlıın çok sayıda predatör türü belirlenmiştir. Şahin (1997) Erzurum’da Patates böceği’nin *Exolygus rugulipennis* Poppius (Heteroptera: Miridae), *Anthocoris sibiricus* Reuter (Heteroptera: Anthocoridae), *C. septempunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae)’nın, *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) ve *Deraeocoris seranus* Douglas-Scott (Heteroptera: Miridae) doğal düşmanları belirlenmiştir. Zararlıın herhangi bir parazitoitini tespit edememişlerdir. Kedici vd. (1998) Niğde, Nevşehir, Ankara ve Bolu illerinde zararlıyla beslenen *A. sibiricus*, *Nabis punctatus* Costa (Heteroptera: Nabidae), *Zicrona caerulea* Linnaeus (Heteroptera: Pentatomidae), *Chrysoperla* spp., *Adonia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae), *Coccinula quatuordecimpustulata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae), *C. septempunctata*, *Semiadalia undecimnotata* Schneider (Coleoptera: Coccinellidae) ve *Propylaea quatuordecimpustulata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae) türleri belirlemişlerdir. Nault vd. (1997) Kuzey Carolina eyaletinde (ABD) zararlıın *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae) ve *Perillus bioculatus* Fabr. Say (Heteroptera: Pentatomidae) gibi doğal düşmanlarını tespit etmişlerdir. Hough-Goldstein vd. (1993), ABD’de *C. septempunctata* tarla şartlarında *L. decemlineata* üzerinde düşük bir etkiye sahip olduğunu, *C. carnea*’nın zararlıın yumurta predatörü olarak dikkate değer bir aday olduğunu tespit etmişlerdir. Sablon vd. (2013) laboratuvar şartlarında 3. dönem *C. carnea* larvalarının diğer larva dönemlerinden dört katı daha fazla *L. decemlineata* larvasıyla beslendiğini bildirmişler ve *C. carnea*’nın larva dönemlerinin zararlı ile mücadeledeki dikkate değer önemini belirtmişlerdir. Günümüze kadar Patates böceği’nin az sayıda parazitoit türü belirlenmiştir. Lashomb vd. (1987) ABD’nde *Edovum puttleri* Grissell (Hymenoptera: Eulophidae)’nin *L. decemlineata* yumurtalarını %71-91 arasında parazitlediğini tespit etmişlerdir. Yabaş vd. (1995) laboratuvarında yumurta parazitoiti *Edovum puttleri* Grissell (Hymenoptera: Eulophidae)’nin *L. decemlineata* yumurtalarının %41.6 oranında parazitlendiğini tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada Bolu ilinin önemli bir gelir kaynağı olan patatesin, yoğun olarak üretimi yapılan merkeze bağlı köylerde ekonomik kayıplara neden olan *L. decemlineata*'nın, doğal düşmanları ve bölge koşullarında kışlama özellikleri tespit edilmiştir. Böylelikle zararlıyla mücadelede dikkat edilmesi gereken önemli hususlar ortaya çıkarılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 2020 ve 2021 yılları arasında Bolu ili merkez ovasının ikisi kuzey köylerinden (Yeniakçakavak, Alıçören), ikisi güney köylerinden (Doğancı, Taşoluk) seçilen toplam 4 adet patates tarlasında yürütülmüştür. (Şekil 1). Belirlenen patates tarlalarının ilaçlamalarında kullanılan etkili madde, ilaçlama zamanı ve ilaçlama sayısı hakkında çiftçi şartlarına müdahalede bulunulmamıştır. Çalışmanın materyalini, çalışmanın ilk yılı için 4 adet; ikinci yılı için 4 adet olmak üzere toplam 8 adet patates tarlası, *L. decemlineata*'nın ergin, larva ve yumurtaları, kışlama çalışması için kullanılan kışlama saksıları, örtü tülleri, toprak sıcaklık ölçer, doğal düşman taramalarında kullanılan ince uçlu fırça, emgi tüpü ve parazitoit çıkışını tespit etmek amacıyla toplanan zararlıların bireylerini kültüre almak için kullanılan plastik şeffaf kaplar oluşturmuştur.



Şekil 1. Patates böceği'nin doğal düşman çalışmalarının yürütüldüğü lokasyonların uydu görüntüsü.
Figure 1. Satellite image of locations where natural enemy studies of the potato beetle were conducted.

Patates Böceği'nin Predatör ve Parazitoit Türlerinin Belirlenmesi

Leptinotarsa decemlineata'nın Bolu il merkezinde patates yetiştirilen alanlarda parazitoit ve predatör türlerini tespit etmek amacıyla haftalık arazi çıkışları yapılarak zararlının farklı dönemleriyle beslenmesi muhtemel olan predatör türler izlenerek ve örnekler toplanmıştır. Ayrıca zararlının parazitoit türlerini tespit etmek amacıyla ayda bir her tarladan toplanabildiği kadar *L. decemlineata*'nın ergin, larva ve yumurta paketi toplanmış ve her lokasyon için ayrı ayrı olmak üzere kültüre alınmıştır (Şekil 2). Kullanılan her bir kültür kabının üzerine temsil ettiği lokasyon ve toplanma tarihi yazılarak kapaklarının üzerine içeride nem birikmesini önlemek amacıyla delikler açılmıştır. Kültüre alınan Patates böcekleri taze patates yapraklarıyla beslenmiş ve herhangi bir parazitoit çıkışını belirlemek amacıyla günlük olarak kontrol edilmiştir.



Şekil 2. Parazitoit çıkışını tespit etmek amacıyla kültüre alınan *L. decemlineata*'nın ergin, larva ve yumurtaları.

Figure 2. Adults, larvae and eggs of *L. decemlineata* cultured to detect parasitoid emergence.

Patates Böceği'nin Kışlama Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmanın yürütüldüğü her iki yıl (2020-21) için patates üretim sezonu sonunda dört adet lokasyondan toplanabildiği kadar ergin *L. decemlineata* bireyleri toplanmıştır. Çalışmanın ilk yılı toplanan erginler, her bir lokasyon için ayrı olmak üzere içerisinde 40 cm derinliğinde toprak bulunan saksılara alınmıştır. Zararlının dışarıya kaçmasını önlemek amacıyla saksıların üzeri tüllerle kapatılarak kışlama kafesleri oluşturularak, ekim ayından itibaren havaların soğumasıyla kışlamak için toprağa girecek olan böceklerin açık balkonda kışlamaları sağlanmıştır (Şekil 3). Bu amaçla hazırlanan saksılarda, Doğancı lokasyonundan 63 adet, Taşoluk lokasyonundan 32 adet, Yeniakçakavak lokasyonundan 31 adet, Alıçören lokasyonundan ise 23 adet ergin birey kışlama çalışmaları için kullanılmıştır. Zararlı kış diyapozuna girene kadar saksılara patlıcan dilimleriyle besin takviyesi yapılmıştır. Bolu ili koşullarında zararlının kışlama ve kışlamadan çıkış zamanını tespit etmek amacıyla ekim ayında havaların soğumasıyla ve bir sonraki yıl ortalama hava sıcaklığının 10 °C'yi aşmasıyla birlikte kışlama saksılarının haftalık kontrolleri yapılmış ve kışlama döneminden çıkan bireyler çalışmanın sonuna kadar kaydedilmiştir (Tauber ve Tauber, 2002). Çalışmada toprak sıcaklığını ölçmek amacıyla TP-101 sıcaklık ölçer kullanılmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Çalışmanın ilk yılı (2020) üzeri tüllerle kapatılmış saksılarla oluşturulmuş kışlama kafesleri ve toprak sıcaklığının ölçülmesi.

Figure 3. In the first year of the study (2020), overwintering cages created with pots covered with nets and measurement of soil temperature.

Kışlama çalışmasının ikinci yılında (2021) ise, doğa şartlarına tamamen açık alana, her lokasyonu temsil edecek şekilde 50 cm derinliğinde 4 adet çukur kazılmıştır. Açılan bu çukurların dipleri ve yanları

zararlıının kaçışlarını önlemek amacıyla 3 kat tül ile kapatılmıştır. Çukurlardan çıkarılan toprak taş ve yabancı maddelerden arındırılarak açılan çukurlara geri doldurulmuştur. Patates üretim sezonu sonunda açık alana hazırlanan yer kafeslerine konulmak üzere her lokasyondan 60'ar adet Patates böceği ergini toplanmıştır. Toplanan böcekler lokasyonlarına göre yer kafeslerine konularak üzeri tül ile bağlanmıştır. Böcekler kışlama dönemine girene kadar patlıcan dilimleriyle yer kafeslerine besin takviyesi yapılmıştır (Şekil 4). Zararlıının kışlama zamanını ve kışlamadan çıkış zamanını tespit etmek amacıyla haftalık olarak tüllerin içi kontrol edilerek elde edilen veriler kayıt altına alınmıştır.



Şekil 4. Çalışmanın ikinci yılı (2021) yere açılan ve tül ile çevrelenmiş kışlama çukurları.

Figure 4. Overwintering pits dug into the ground and surrounded by tulle in the second year of the study (2021).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Patates Böceği'nin Predatör ve Parazitoit Türlerinin Belirlenmesi

Patates böceği'nin Bolu ili merkez ovasındaki doğal düşmanlarının belirlenmesi amacıyla çalışmanın ilk yılı (2020) gerçekleştirilen çalışmalarda, Doğanlı lokasyonundaki tarlada 16 Temmuz 2020 tarihinde 1 adet *C. carnea* yumurtası, Yeniakçakavak lokasyonundaki tarlada 06 Ağustos 2020 tarihinde 1 adet *C. carnea* larvası belirlenmiştir. Alıçören lokasyonundaki tarlada ise 06 Ağustos 2020 tarihinde 1 adet *S. undecimnotata* tespit edilmiştir. Patates böceği'nin doğal düşmanlarının belirlenmesi amacıyla çalışmanın ikinci yılı (2021) gerçekleştirilen arazi çalışmalarında ise herhangi bir doğal düşman tespit edilmemiştir.

Yürütülen parazitoit çıkışı belirleme çalışmalarında aylık olarak toplanıp kültüre alınan *L. decemlineata*'nın ergin, larva ve yumurtalarından çalışmanın gerçekleştirildiği her iki yılda da herhangi bir parazitoit çıkışı tespit edilmemiştir (Çizelge 1)

Çizelge 1. Parazitoit türlerinin belirlenmesi amacıyla toplanan *Leptinotarsa decemlineata* sayıları.

Table 1. Numbers of *Leptinotarsa decemlineata* collected to determine parasitoid species.

Biyolojik Dönem	2020		2021	
	Kültüre Alınan	Tespit Edilen Parazitoit	Kültüre Alınan	Tespit Edilen Parazitoit
Ergin	220	-	250	-
Larva	55	-	45	-
Yumurta	101	-	120	-

Şahin (1997) tarafından 1994-95 yıllarında Erzurum ilinde yürütülen doğal düşman çalışmasında da, *C. carnea* doğal düşmanının *L. decemlineata* yumurtaları ile beslendiği belirlenmiştir. Ayrıca parazitoit çıkışı tespit etmek amacıyla toplanan *L. decemlineata*'nın ergin, larva ve yumurtalarından herhangi bir parazitoit çıkışının olmadığı belirlenmiştir. Kedici vd. (1998) tarafından Bolu ilinde yürütülen doğal düşman çalışmalarında *N. punctatus*, *A. sibiricus*, *A. variegata*, *Z. caerulea*, *Chrysoperla spp.*, *C. quatuordecimpustulata*, *C. septempunctata* gibi doğal düşmanlar tespit edilmiş ve *L. decemlineata*'nın ergin, larva ve yumurtalarından

herhangi bir parazitoit çıkışının olmadığı bildirilmiştir. Kedici vd. (1998)'nin Bolu ilinde tespit ettiği *L. decemlineata*'nın doğal düşmanlarından *Chrysoperla* spp. ve Ankara'nın Kazan ilçesinde tespit edilen *S. undecimnotata* türlerinin belirlendiğini bildirmişlerdir. Kedici vd. (1998)'nin bu çalışmayı 1994-1995 senelerinde yaptığı göz önüne alınırsa, gerçekleştirdiğimiz arazi çalışmalarında sınırlı sayıda doğal düşmanın belirlendiği, günümüze kadar geçen sürede Bolu ilinde *L. decemlineata* doğal düşmanlarının patates yetiştiriciliğinde kullanılan insektisitlerin etkisiyle olumsuz etkilendiği düşünülmüştür. Kuepper (2003) Patates böceği'nin doğal düşmanlarının ticari patates üretim alanlarında yoğun pestisit kullanılmasından ve doğal düşmanları barındıracak habitat eksikliğinden dolayı nadiren görülebileceğini bildirmiştir. Patates yetiştiriciliğinde doğal düşman varlığını korumak için *L. decemlineata* ile mücadelede mekanik mücadelenin önemi büyüktür. Gürkan ve Boşgelmez (1984), mayıs-haziran aylarında Patates böceği'nin ilk dölüne karşı uygulanacak mekanik mücadelenin öneminin büyük olduğunu vurgulamıştır.

Patates Böceği'nin Kışlama Özelliklerinin Belirlenmesi

Patates böceği'nin kışlama özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla çalışmanın ilk yılı (2020) kışlama kafesi olarak kullanılan saksılarda zararlının, 11 Ekim 2020 tarihinde kışlama dönemine girdiği tespit edilmiştir. Zararlının kışlamaya girdiği dönemde pentat hava sıcaklığı ortalaması 15 °C, pentat nisbi nem ortalaması %59.32 olarak belirlenmiştir. Kışlama kafeslerinde bir sonraki sene takipler sürdürülmüş ve yalnızca Doğancı lokasyonunu temsil eden kafesteki 2 adet (%3.2) Patates böceği'nin 15 Mayıs 2021 tarihinde kış diyapozundan çıktığı tespit edilmiş olup diğer saksılarda ise herhangi bir çıkış tespit edilmemiştir (Çizelge 2). Doğancı lokasyonunu temsil eden saksıdan kış diyapozundan çıkış oranının düşük kalmasının ve diğer lokasyonlardan herhangi bir çıkışın olmayışının nedeninin, kışlama saksılarının doğal yağışları alamayacağı ortamda tutulmuş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Tauber vd. (1994) uygun toprak sıcaklığı sağlandıktan sonra, Patates böceği'nin kış diyapozundan çıkışlarına topraktaki nemin bir uyarıcı olarak görev aldığını ve toprak nemindeki azalışın kış diyapozundaki böceklerde çıkışları azaltabileceğini ya da durdurabileceğini belirtmiştir. Herhangi bir çıkışın gerçekleşmediği belirlenen diğer Patates böcekleri için mevcut olan kışlama çalışması bir kış daha sürdürülmüş fakat 2022 yılında da herhangi bir çıkış tespit edilmemiştir. Tauber ve Tauber (2002) *L. decemlineata*'nın bir kış döneminden daha fazla süren diyapoz sergileyebildiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca Patates böceği'nin %56.5'inin kışlama döneminden çıkabildiğini tespit etmiş olup, kışlama döneminde olan böceklerin %2.3'ünün ise dokuz yıla kadar olmakla birlikte, bir yıldan daha uzun süren diyapoz hali sergilediğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle yürütülen kışlama çalışmasında sonraki yıllarda çıkış olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kışlama kafeslerinde bir sonraki sene (2021) mayıs ayında yapılan kontrollerde bazı Patates böceklerinin kışlamak amacıyla toprağın derinlerine doğru hareket etmediği, toprağın 1 cm'lik yüzeyine yarı gömülü vaziyette kışladığı tespit edilmiş ve bu böceklerin tamamının kışlama döneminden çıkamadan öldüğü belirlenmiştir. Gürkan ve Boşgelmez (1984) bir kavanozun içerisinde kışlama dönemine giren *L. decemlineata* bireylerinin %75'inin öldüğünü tespit etmiştir. Hiiesaar vd. (2006) toprak yüzeyinde kışlayan *L. decemlineata* bireylerinde, toprağın içinde kışı geçirenlere kıyasla daha çok ölüm tespit etmişlerdir. Gürkan ve Boşgelmez (1984) *L. decemlineata*'nın kışlama tarihinin eylül ayının 2. ve 3. haftalarına denk geldiğini, kış diyapozundan uyanma zamanının ise mayıs ayının ilk haftasına denk geldiğini belirtmişlerdir. Patates böceği'nin kış diyapozundan çıkma zamanının belirlenmesinde her iki çalışmada da benzer sonuçlara varılmıştır.

Çizelge 2. Çalışmanın ilk yılı (2020) ve ikinci yılında (2021) kışlama kafeslerine konulan ve bir sonraki sene kış diyapozundan çıkan *Leptinotarsa decemlineata* sayısı.

Tablo 2. Number of *Leptinotarsa decemlineata* placed in wintering cages in the first year (2020) and second year (2021) of the study and emerging from overwinter diapause the following year.

Lokasyonlar	Çalışmanın ilk yılı (2020) kışlama verileri		Çalışmanın ikinci yılı (2021) kışlama verileri			
	Kışlama saksısına konulan ergin sayısı	Ölen ergin sayısı	Kışlama döneminden çıkan ergin sayısı	Kışlama çukuruna konulan ergin sayısı	Ölen ergin sayısı	Kışlama döneminden çıkan ergin sayısı
Doğancı	63	45	2	60	15	10
Taşoluk	32	17	-	60	15	10
Yeniakçakavak	31	26	-	60	15	12
Alıçören	23	18	-	60	15	12

Çalışmanın ikinci yılında (2021) gerçekleştirilen kışlama çalışmasında kışlama kafesleri, doğal yağışlar dahil tüm meteorolojik şartlara açık alana kurulmuştur. Bu kışlama çalışmasında *L. decemlineata*'nın, 05 Ekim 2021 tarihinde kışlama dönemine girdiği tespit edilmiştir. Patates böceği'nin kış diyapozuna girdiği dönemde pentat hava sıcaklığı ortalaması 10.26 °C, pentat nisbi nem ortalaması %75.08 olarak belirlenmiştir. Zararlının bu çalışmadaki kış diyapozuna girdiği dönemde hesaplanan pentat hava sıcaklığı ortalaması ile bir önceki yıl yürütülen kışlama çalışmasındaki pentat hava sıcaklık ortalamaları karşılaştırıldığında, zararlının ekim ayı içerisinde genel olarak 10-15 °C pentat hava sıcaklık ortalamaları değerlerinde kışlama dönemine girdiği belirlenmiştir. Zararlının 09 Mayıs 2022 tarihinde kışlama döneminden çıktığı tespit edilmiş olup, yer kafeslerine konulan 60'ar adet *L. decemlineata*'dan entomopatojen mikroorganizma enfeksiyonu sonucu 15'er adet böceğin kışlama dönemine giremeden öldüğü tespit edilmiştir (Çizelge 2). Şahin (1997) Erzurum ilinin Pasinler ilçesinde 1995 yılında *L. decemlineata*'nın 22 Mayıs tarihinde; 1996 yılında 28 Mayıs tarihinde kışlama döneminden çıktığını belirlemiştir. Gerçekleştirdiğimiz kışlama çalışmasının her iki yılında elde edilen veriler ile Şahin (1997)'in bulguları karşılaştırıldığında, zararlının genel olarak mayıs ayında havaların ısınmasıyla kış diyapozundan çıktığı kanısına varılmıştır. Tauber ve Tauber (2002) *L. decemlineata*'nın kış diyapozundan çıkma oranını %56.5 olarak tespit etmiştir. Gürkan ve Boşgelmez (1984) ise bir kavanozun içinde kışlama dönemine giren *L. decemlineata*'ların %75'inin öldüğünü; açık arazide kışlatılan bireylerin ise %86'sının ölmeden kışladığını tespit etmişlerdir. Zararlının kışlama döneminden çıkış oranlarına etki eden birçok faktör bulunmaktadır. Hiiesaar vd. (2006) ağır bünyeli topraklarda kışlama dönemine giren Patates böceklerinin, hafif bünyeli topraklarda kışlamaya giren bireylere kıyasla daha çok ölüm oranına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Zararlının kışlama döneminden çıkış oranlarında bu denli farklılıkların bulunmasının nedeninin, kışlama derinliği, kışlamanın gerçekleştiği toprak strüktüründeki farklılıklar, bölgenin iklim özellikleri, kışlama öncesi Patates böceği'nin beslenmesine bağlı olarak biriktirdiği enerji depolarının farklılığı, toprakta bulunan entomopatojen mikroorganizma varlığı, Patates böceği'nin kış diyapozuna girdiği toprağın nem oranındaki azalmanın kışlama döneminden çıkışları geciktirici ya da durdurucu etkisinin olması gibi nedenlerden ileri gelebileceği düşünülmüştür (Gürkan ve Boşgelmez 1984; Weber ve Ferro 1993; Tauber vd. 1994; Hiiesaar vd., 2006). Gürkan ve Boşgelmez (1984), zararlının kışlama döneminden çıktığı andaki toprak sıcaklığını sırasıyla 13.4 °C ve 14 °C olarak tespit etmişlerdir. Yürüttüğümüz çalışmalarda ise zararlının kış diyapozundan çıktığı tespit edildiğinde, toprak sıcaklığı 2021 yılı için 15.4 °C, 2022 yılı için ise 14.8 °C olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen bu değerlerin, Gürkan ve Boşgelmez (1984)'in bildirdiği toprak sıcaklıklarıyla uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

SONUÇ

Bolu ili merkez ovasında 2020-2021 patates üretim sezonlarında gerçekleştirilen doğal düşman arazi çalışmalarında 2020 yılında *C. carnea* ve *S. undecimnotata* doğal düşmanları tespit edilmiştir. Çalışmanın her iki senesinde parazitoit çıkışı tespit etmek amacıyla kültüre alınan Patates böceği'nin ergin, larva ve yumurtalarından herhangi bir parazitoit çıkışı belirlenmemiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmada az sayıda

doğal düşman tespit edilmesinin ve herhangi bir parazitoit çıkışının tespit edilmemesinin nedeninin kontrolsüz gerçekleştirilen insektisit uygulamalarının doğada bulunan doğal düşman varlığına ciddi zararlar vermesinin bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.

İki yıl boyunca sürdürülen Patates böceği'nin kışlama özelliklerinin belirlenmesi çalışmalarında zararlının çalışmanın ilk yılı 11 Ekim 2020 tarihi itibarıyla kışlama dönemine girdiği, 15 Mayıs 2021 tarihinde kışlama döneminden çıktığı tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci yılında ise zararlının 05 Ekim 2021 tarihinde kışlama dönemine girdiği, 09 Mayıs 2022 tarihinde ise kışlama döneminden çıktığı belirlenmiştir. Ayrıca *L. decemlineata*'nın kış diyapozundan çıkma zamanı tespit edildiğinde ölçülen toprak sıcaklığı 2021 yılı için 15.4 °C, 2022 yılı için ise 14.8 °C olarak tespit edilmiştir.

Hem insan beslenmesinde hem de gıda endüstrisinde yoğun olarak kullanımıyla dünya ülkelerinde vazgeçilmez bir yere sahip olan patates yetiştiriciliğinde zararlılara karşı yoğun insektisit kullanımının doğal dengeye verdiği zararın en aza indirilmesi amacıyla, ilaçlamaların doğal dengenin korunması hassasiyetiyle makul seviyeye çekilmesi, *L. decemlineata*'ya karşı mücadele metotları arasında kültürel mücadele yöntemlerinin daha çok ön plana çıkması gerektiği kanısına varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKISI

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Sedat AKÇIN'ın Lisansüstü Tez çalışmasının sonuçlarındaki bulguları içermekte olup, bu çalışmayı BAP 2001.10.06.1487 numaralı projeye destekleyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi'ne teşekkür ederim.

KAYNAKLAR





- Alyokhin, A. (2009). Colorado potato beetle management on potatoes current challenges and future prospects. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 3(1), 10-19.
- Anonim, (2017). *Patates Entegre Mücadele Teknik Talimatı*, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara, s. 124.
- Atak, U. (1973). Trakya Bölgesinde patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say.)'nin morfolojisi, bio-ekolojisi ve savaş metotları üzerinde araştırmalar. *TC Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, Teknik Bülten*, 6, 63.
- Biever, K. D., & Chauvin, R. L. (1990). Prolonged dormancy in a Pacific northwest population of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera:Chrysomelidae). *Canadian Entomologist*, 122, 175-177.
- FAO, (2019). Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. [Erişim Tarihi: 29 Eylül 2021].
- Gürkan, B., & Boşgelmez, A. (1984). Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say.)'nin popülasyon dinamiği. *Bitki Koruma Bülteni*, 24(3), 119- 136.
- Hiiisaar, K., Metspalu, L., Jõudu, J., & Jõgar, K. (2006). Over-wintering of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in field conditions and factors affecting its population density in estonia. *Agronomy Research*, 4(1), 21-30.
- Hough-Goldstein, J. A., Heimpel, G. E., Bechmann, H. E., & Mason, C. E. (1993). Arthropod natural enemies of the Colorado potato beetle. *Crop Protection*, 12(5), 324-334. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(93\)90074-S](https://doi.org/10.1016/0261-2194(93)90074-S).
- Kedici, R., Melan, K., & Kodan, M. (1998). Patates böceğinin doğal düşmanlarının tespiti ve *Chrysoperla* sp. zararlıının biyolojik mücadelede kullanılma imkanlarının araştırılması. *Bitki Koruma Bülteni*, 38(1-2), 13- 23.
- Kekillioğlu, A., & Yılmaz, M. (2018). Patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)]'nin Nevşehir ilinde yaşamsal etkileşim ve çeşitliliği üzerine bir ön çalışma. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 28(1), 100-107.
- Kılınçer, N., Yiğit, A., Kazak, C., Er, M. K., Kurtuluş, A., & Uygun, N. (2010). Teoriden pratiğe zararlılarla biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 15-60.
- Kuepper, G. (2003). Colorado potato beetle: organic control options. <http://carolinafarmstewards.org/wp-content/uploads/2012/12/10-ATTRA-Colorado-Potato-Beetle.pdf> [Erişim Tarihi: 30 Kasım 2021].

- Lashomb, J., Ng, Y.S., Jansson, R.K., & Bullock, R. (1987). *Edovum puttleri* (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): development and parasitism on eggplant. *Journal of Economic Entomology*, 80(1), 65–68.
- Nault, B. A., Hanzlik, M. W., & Kennedy, G. G. (1997). Location and abundance of adult Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) following potato harvest. *Crop Protection*, 16(6), 511-518.
- Oerke, E. C., Dehne, H. W., & Schonbeck, F. (1994). *Estimated losses in major food and cash crops*. Crop Production and Crop Protection, Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
- Sablon, L., Haubruge, E., & Verheggen, F. J. (2013). Consumption of immature stages of Colorado potato beetle by *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) larvae in the laboratory. *American Journal of Potato Research*, 90, 51–57. <https://doi.org/10.1007/s12230-012-9275-y>.
- Şahin, M. E. (1997). Patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'nin Erzurum ekolojik koşullarında biyo-ekolojisi, popülasyon yoğunluğu ve doğal düşmanlarının tespiti. [Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi]. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>.
- Tarla, Ş. & Tarla, G., (2018). Detection of *Perillus bioculatus* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae) on a new host in Anatolia. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 7(3), 317-319.
- Tauber, M. J., Tauber, C. A., & Nyrop, J. P. (1994). Soil moisture and postdormancy emergence of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae): descriptive model and field emergence patterns. *Environmental Entomology*, 23(6), 1485-1496.
- Tauber, M. J., & Tauber, C. A. (2002). Prolonged dormancy in *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae): a ten-year field study with implications for crop rotation. *Environmental Entomology*, 31(3), 499-504.
- Wang, C., Hawthorne, D., & Qin, Y. (2017). Impact of climate and host availability on future distribution of Colorado potato beetle. *Scientific Reports*, 7, 4489. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04607-7>.
- Weber, D. C., & Ferro, D. N. (1993). Distribution of overwintering Colorado potato beetle in and near Massachusetts potato fields. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 66(2), 191-196.
- Yabaş, C., Ulubilir, A., & Canhilal, R. (1995). Patates böceği *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.:Chrysomelidae)'nin biyolojik mücadelesi üzerine bazı araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 35(3-4), 227-240.
- Yiğit, Ş., Aşkın, A.K., Küçüktopçu, Y., Saruhan, İ., & Akça, İ. (2022). Determination of the effects of some organic origin preparations on potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) (Coleoptera: Chrysomelidae). In M. Y. Dörtbudar & M. Erdoğan (Eds.), *4th international göbeklitepe scientific research congress proceedings book* (s. 787-795). Ankara: Iksad Publications.



Akdeniz meyvesineği, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nin Marmara Bölgesi Meyve Bahçelerine Bulaşma Yolları, Kışlama Durumu ve Alınması Gerekli Önlemler

The Transmission Pathways of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), (Diptera: Tephritidae) into Fruit Orchards of the Marmara Region, Capacity of Overwintering and the Precautions Should Be Taken

Gürsel Çetin¹ , Pınar Hephızlı Göksel² , Cemil Hantaş³ , Mehmet Emin Akçay⁴ 

Geliş Tarihi (Received): 21.03.2023

Kabul Tarihi (Accepted): 14.07.2023

Yayın Tarihi (Published): 21.08.2023

Öz: Akdeniz meyvesineği, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), ticari değer taşıyan birçok meyve türünün önemli bir zararlısıdır. Bazı ülkelerin karantina listesinde yer alan bu zararlı kayda değer ekonomik kayıplara yol açabilmektedir. Daha çok tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olan Akdeniz meyve sineğine Marmara Bölgesinde de rastlanılmıştır. Bu çalışma Akdeniz meyvesineğinin Marmara Bölgesi (Bursa, Kocaeli ve Yalova)'ndeki meyve bahçelerine bulaşma yollarını, kışlama durumunu ve alınması gerekli önlemleri belirlemek amacıyla ele alınmıştır. Bulaşma yolları; sebze-meyve hallerine ve şehirlerarası yol yakınındaki konukçu meyve türlerinin bulunduğu bahçelere asılan para-feromon trimedlure'lu delta tipi tuzaklarda ergin takibi, meyvelerde vuruş kontrolü ve vuruklu meyvelerin de laboratuvarda kültüre alınmasıyla belirlenmiştir. Kışlama durumu ise toprak örnekleme, yumurta ve larva ile bulaşık meyvelerin bahçede tel kafes altına bırakılması, laboratuvar koşullarında elde edilen pupaların sakı içerisinde tel kafes altına konulması, konukçu meyve ağaçlarının taç iz düşümünü kapsayacak şekilde tel kafes altına alınması ile araştırılmıştır. Marmara Bölgesinde 2015 - 2018 yılları arasında yürütülen bu çalışmada tuzaklarda ilk erginler sebze - meyve hallerinde Mayıs-haziran, meyve bahçelerinde ise Temmuz-ağustos-eylül aylarında görülmüştür. Meyve bahçelerinde yoğun yakalanma ekim ayının üçüncü haftasında, son yakalanma aralık ayının ikinci haftasında gerçekleşmiştir. Çalışma sonucunda zararlının Marmara Bölgesine Akdeniz ve Ege Bölgesinden ticari amaçla getirilen larva veya yumurta ile bulaşık meyveler ile taşındığı kanısına varılmıştır. Ayrıca, zararlının bölge koşullarında kışı toprakta pupa veya meyve içerisinde larva döneminde geçirdiğine dair bir bulgu elde edilmemiştir. Zararlının bölgeye bulaşmaması ve yerleşmemesi için iç karantina önlemlerinin alınması, meyve-sebze hallerinde sanitasyonun sağlanması, hasat sonrasında yere dökülen ve dalda bırakılmış ticari değer taşımayan meyvelerin imhası gibi kültürel ve yasal önlemlerin alınması önemli bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Ceratitis capitata*, Kışlama, Bulaşma yolları, Marmara Bölgesi

&

Abstract: The Mediterranean fruit fly (medfly), *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), is a significant pest of many commercially valuable fruit species. It is on the quarantine list of some countries and can lead to significant economic losses. Medfly, more common in tropical and subtropical regions, has also been noticed in the Marmara Region. This study was executed to ascertain the medfly's transmission pathways to the orchards in the Marmara Region (Bursa, Kocaeli, and Yalova Provinces), whether it will survive in the winter or not, and the necessary precautions to be taken. Transmission pathways were determined by monitoring adults captured on the delta-type traps with parapheromone (trimedlure) placed into the fruit-vegetable wholesale market area and orchards close to intercity roads weekly, examining infested fruits and obtaining adults from infested fruits in the laboratory. In relation to overwintering studies, soil samples were taken; fruits containing egg and larvae were placed in a cage with wire mesh in orchards; the pupae obtained in laboratory conditions were placed in pots under a wire cage; some host fruit trees were enclosed in cages with wire screen to cover the crown ridge. In this study, the first adults in the traps were caught in the wholesale vegetable and fruit places in May and June, and in the orchards in July, August, and September in the Marmara Region from 2015 to 2018. Intensive having captured in orchards appeared in the third week of October, and the last catching occurred in the second week of December. As a result of the study, it was concluded that the pest is transported to the Marmara Region by the larvae or egg-contaminated fruits brought from the Mediterranean and Aegean Regions for commercial purposes. In addition, regarding the medfly's overwintering ability, no evidence was revealed that it could last the winter as a pupa in the soil or a larva in fruit under local climatic conditions. The results indicate that if legal and cultural measures are implemented, such as national quarantine, hygienic fruit and vegetable markets, and destroyed non-commercially valued fruits dumped on the ground and left on the branch, it will be possible to prevent the transmission and settlement of the medfly into the region.

Keywords: *Ceratitis capitata*, Capacity of overwintering, Transmission pathways, Marmara Region

Atıf/Cite as: Çetin, G., Göksel Hephızlı, P., Hantaş, C., & Akçay, M. E. (2023). Akdeniz meyvesineği, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nin Marmara Bölgesi Meyve Bahçelerine Bulaşma Yolları, Kışlama Durumu ve Alınması Gerekli Önlemler. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 9 (2), 162-175. DOI: 10. 24180/ijaws.1268639.

İntihal-Plagiarizm/Etik-Ethic: Bu makale, en az iki hakem tarafından incelenmiş ve intihal içermediği, araştırma ve yayın etiğine uyulduğu teyit edilmiştir. / This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Ziraat Yüksek Mühendisi, Gürsel ÇETİN, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, gursel.cetin@tarimorman.gov.tr (Sorumlu Yazar / Corresponding author)

² Ziraat Yüksek Mühendisi, Pınar HEPHIZLI GÖKSEL, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, pinar.hephizli@tarimorman.gov.tr

³ Ziraat Yüksek Mühendisi, Cemil HANTAŞ, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, cemil.hantas@tarimorman.gov.tr

⁴ Dr. Mehmet Emin Akçay, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, mehmetemin.akcay@tarimorman.gov.tr

GİRİŞ

Tarım ülke nüfusunun temel gıda ihtiyaçlarını karşılayan, ilgili sektörlere hammadde sağlayan, istihdam oluşturan ve önemli miktarda ihracat geliri ile milli ekonomiye katkıda bulunan önemli bir sektördür. Türkiye'nin iklimi ve toprak yapısı birçok meyve türlerinin yetiştirilmesine elverişlidir. Meyve üretiminin artışı ile soğuk zincir, gıda muhafaza, işleme ve değerlendirilme konusundaki gelişmeler ihracatın artmasına yol açmıştır. Türkiye'nin narenciye ve taze meyve ihracatı 2020 yılı itibarıyla yaklaşık iki milyar dolardır (TUİK, 2021). Marmara Bölgesinde bazı önemli subtropik ve ılıman iklim meyve türlerinin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu bölge Türkiye ahududu üretiminin tamamını, kivi üretiminin %44'nü, şeftali üretiminin %41'ni, ayva üretiminin %35'ni, zeytin üretiminin %33'nü, muşmula üretiminin %26'sını, erik üretiminin %21'ni, armut ve kestane üretiminin %20'sini, kiraz üretiminin %19'nu, çekirdekli üzüm, badem ve ceviz üretiminin %20'ni, Trabzon hurması ve elma üretiminin %5'ni karşılamaktadır (TUİK, 2021). Meyve üretiminde verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen faktörlerden birisi de zararlı organizmalardır. Zararlı organizmalardan bazıları uluslararası tarımsal ürün ticaretine engel teşkil edebilmektedir. Akdeniz meyvesineği (AMS), *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae)'de ihracatta toleransı sıfır olan zararlı organizmalardanır (Elekçioğlu, 2013a). Dünya'da tropik ve subtropik tüm bölgelere yayılmış olması, diğer meyve sineklerine göre serin iklim bölgelerine de uyum gösterebilmesi, 200'den fazla konukçusunun olması ve konukçularının meyvelerine doğrudan zarar vermesi AMS'nin önemini artırmıştır (Liquidó vd., 1991; Ricalde vd., 2012). En çok tercih ettiği meyve türleri başta turuncgiller olmak üzere Trabzon hurması, şeftali ve incirdir. Bunların yanında Türkiye için ekonomik değer taşıyan kayısı, ayva, erik, elma, armut da zaman zaman zarar verdiği konukçulardır (Kahyaoglu ve Gürkan 2010; Kızılyamaç, 2016; Tiring, 2015; Tosun, 2016). Zararlı konukçularının meyvelerinde yumuşama ve çöküntüler oluşturarak dökülmelerine neden olmaktadır. Zarar oranı yıllara göre %5-80 arasında değişebilmektedir. Kışı toprakta pupa veya meyve içerisinde larva döneminde geçirmekte ve erginleri hava sıcaklığının 16 °C üzerinde olduğu günlerde yumurtalarını olgunlaşma başlangıcındaki meyvelerin kabuğu altına grup halinde bırakmaktadır. Ege bölgesinde 4-5 Akdeniz bölgesinde ise 7-8 döl verebilmektedir (Anonim, 2008). Akdeniz meyve sineğinin Marmara Bölgesindeki varlığı belirlenmiş (Gençer, vd., 2005) olsa da zararlıya özgü geniş kapsamlı bir bilimsel çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu zararlının mücadelesi esasen Akdeniz ve Ege Bölgesinde ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılan narenciye ve diğer meyve türlerinde üreticiler tarafından T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Ziraî Mücadele Teknik Talimatı'na göre (kültürel, biyoteknik ve kimyasal metotlar kullanılarak) yapılmaktadır. Ancak yapılan bu çalışmalara rağmen, eğer yeterli önlem alınmazsa AMS'nin bulunduğu bölgeden diğer yerlere taşınma riski her zaman vardır. Nitekim son yıllarda Marmara Bölgesi'nde taze meyve ihracatında görülen sorunlar, birçok meyve türünde görülen vuruklar, üretici şikâyetleri AMS'nin bölgede potansiyel zararlı olma olasılığını doğrular niteliktedir. Ticari amaç ile bulaşık bölgeden ari alana nakledilen meyve ve sebzeler sayesinde AMS'nin aynı yıl içerisinde birden fazla giriş yapabilmesi olasıdır. Bu girişlerin uzun yıllar devam etmesi, zararlının genetik değişkenlik potansiyeli, istilacı tür olma özelliği gibi unsurlar göz önünde bulundurulduğunda bölgeye yerleşme hipotezini güçlendirmektedir. Son zamanlarda biyolojik istila konusundaki dikkatler yabancı türlerin yeni ortamlara giriş oranını hızlandırmada insanların rolüne odaklanmıştır. Biyolojik istilalar çok eskilere dayanmasına rağmen, küresel ticaret arttıkça istilanın sıklığı da artmaya devam edebilecektir (Malacrida vd., 2007). Türkiye'deki farklı bölgeler ve buralardaki meteorolojik faktörler (sıcaklık ve bağıl nem) ile konukçu meyve türlerinin kompozisyonu AMS'nin davranışında farklılık oluşturabilecektir. Zararlı, Akdeniz Bölgesinde 7 - 8 döl verirken (Tiring, 2015), Ege Bölgesinde 4 - 5 döl verebilmektedir (Başpınar vd., 2009). Zararlının Marmara Bölgesi (Bursa, Kocaeli ve Yalova)'ndeki genel durumunu (bölgeye taşınma yolları ve bölgede kışı geçirip geçirmediği, eğer geçiriyorsa hangi biyolojik evresi için geçirdiği) ve alınabilecek önlemleri belirlemek amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Akdeniz meyvesineğinin bölgedeki durumuna açıklık getirmek, nasıl davranış sergilediğini anlamak bir mücadele stratejisi belirlemede önemli olacaktır. Mücadele yöntemleri çoğunlukla benzer olsa da strateji ve zamanlama bölgeden bölgeye değişiklik göstereceği için mücadelenin başarısında önemli yer tutabilecektir.

MATERYAL VE METOT**Materyal**

Akdeniz meyvesineğinin farklı biyolojik dönemleri, enfekteli meyve örnekleri, toprak, para-feromon, delta tipi tuzaklar, kültür kapları, petri kapları, elek (60 mesh), buz kutusu, büyüteç, plastik saksı, polietilen torba, plastik sinek teli, kızılötesi sıcaklık ölçüm cihazı, iklim kayıt cihazı, buzdolabı, GPS cihazı ve iklim odası çalışmanın materyallerini oluşturmuştur.

Metot**Bulaşma Yollarının Belirlenmesi**

Meyve-sebze hallerinin büyüklük durumuna göre; Bursa'da altı (6) Kocaeli'nde iki (2) ve Yalova'da iki (2) adet para-feromon trimedlure'lu delta tipi tuzaklar 2015 yılında mayıs ayının ilk ve ikinci haftasında, 2016 yılında nisan ayının sonu ile mayıs ayının üçüncü haftasında, 2017 yılında ise mayıs ayının birinci ile üçüncü haftasında asılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Ceratitis capitata* erginlerini yakalamak için Marmara Bölgesindeki meyve-sebze hallerine asılan tuzakların asılma ve son sayım tarihleri.

Table 1. Dates of hanging and last counting in traps installed in Marmara Region's fruit and vegetable wholesales markets to catch *Ceratitis capitata* adults.

İl	İlçe	İlk asılma tarihi	Son sayım tarihi	İlk asılma tarihi	Son sayım tarihi	İlk asılma tarihi	Son sayım tarihi
Bursa	Nilüfer	12. 05. 2015	17. 11. 2015	28. 04. 2016	10. 11. 2016	04. 05. 2017	30. 11. 2017
Kocaeli	Başiskele	07. 05. 2015	07. 09. 2015	16. 05. 2016	26. 10. 2016	12. 05. 2017	20. 10. 2017
Yalova	Merkez	12. 05. 2015	02. 11. 2015	09. 05. 2016	05. 10. 2016	15. 05. 2017	21. 11. 2017

Bunlara ilave olarak Bursa ilinde şehirlerarası yol kenarlarındaki (Bursa – Eskişehir – Balıkesir - Çanakkale) bahçelere de altı (6) adet, meyve-sebze halinde bulunan çöplük, meyve suyu fabrikası (Gürsu/Bursa) atık alanına da ikişer adet aynı tuzaklardan asılmıştır. Tuzaklar hakim rüzgar yönünde ve aralarında en az 30 m olacak şekilde yerden 1.5 – 2 m yüksekliğe asılmıştır. Tuzakların doğrudan güneş ışığına, güçlü rüzgârlara ve yol tozlarına maruz kalmamasına özen gösterilmiştir. Para-feromon kapsülleri üretici firma talimatında önerilen süreye göre 3 - 4 haftada bir değiştirilmiştir. Tuzaklar ilk ergin yakalanuncaya kadar haftada iki kez, ilk ergin yakalandıktan sonra ise haftalık olarak takip edilmiştir. Tuzaklarda iki hafta üst üste AMS ergini yakalanmadığında çalışmaya son verilmiştir.

Meyve Bahçelerine Bulaşmanın Belirlenmesi

Tuzaklarla yapılan çalışmalar: Bu çalışma Bursa ve Yalova'da erik, kayısı, kiraz, şeftali, incir, elma, armut, Trabzon hurması ve ayvada Kocaeli'nde ise armut, elma ve ayva bahçelerinde yürütülmüştür. Her bir meyve türü için en az bir bahçe seçilmiş ve her bahçeye iki tuzak asılmıştır. İlk tuzaklar hava sıcaklığının 17 °C yaklaştığında erik, kayısı ve kiraz bahçelerine diğer meyve türlerine ise meyve bağlama dönemine göre asılmış ve kasım ayının son haftasına kadar kontrol edilmiştir (Çizelge 2). Meteorolojik veriler en yakın Meteoroloji Müdürlüklerinden alınmıştır.

Çizelge 2. *Ceratitis capitata* erginlerini yakalamak için Marmara Bölgesindeki meyve bahçelerine asılan tuzakların asılma ve son sayım tarihleri.

Table 2. Dates of hanging and last counts of the adult of *Ceratitis capitata* in traps installed in the Marmara Region's fruit orchards.

İl	İlçe	Köy	İlk asılma tarihi	Son sayım tarihi	İlk asılma tarihi	Son sayım tarihi	İlk asılma tarihi	Son sayım tarihi
Bursa	Osmangazi	Seç	12. 05. 2015	11. 12. 2015	28. 04. 2016	24. 11. 2016	04. 05. 2017	23. 11. 2017
Kocaeli	Başiskele	Eşme	07. 05. 2015	26. 10. 2015	03. 05. 2016	26. 10. 2016	10. 05. 2017	27. 10. 2017
Yalova	Merkez	Enstitü	20. 04. 2015	30. 11. 2015	07. 06. 2016	29. 11. 2016	07. 04. 2017	28. 11. 2017

Tuzakların asılması, feromonlarının değiştirilmesi ve takibi meyve-sebze halleri ile şehirlerarası yol kenarındaki bahçelerdeki yonteme göre yapılmıştır.

Meyvelerin Kültüre Alınması: Bahçeleri temsil edecek şekilde her bir meyve türü için her bir bahçeden 100'er adet meyve, olgunlaşma döneminde ağaçlardan toplanarak Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitü, Bitki Sağlığı Bölümü entomoloji laboratuvarına getirilmiş, 10'luk gruplar halinde dibinde 5 cm kalınlığında odun talaşı bulunan 40 × 30 × 20 cm plastik kaplara konulmuş ve üzeri tülbent bez ile kapatılmıştır. Daha sonra bu kaplar iklim odasında (25 ± 1 °C sıcaklık, %65 ± 5 nispi nem, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık) ergin çıkışı olup olmadığını gözlemlemek için kültüre alınmıştır. Kültür kapları her hafta kontrol edilerek elde edilen erginler her bir meyve türü için ayrı ayrı kaydedilmiştir.

İlek (erkek) incir ile bulaşmanın belirlenmesi: Ege Bölgesinden her yıl dölleyici olarak bölgeye getirilen ilek incir içerisinde AMS'nin yumurta/larva döneminde bölgeye taşınıp taşınmadığını belirlemek için Aydın ilinden temin edilen 100 adet ilek incir meyvesi iklim odasında (25 ± 1 °C sıcaklık, %65 ± 5 nem, 16 : 8 saat Aydınlık: Karanlık) 10'arlık gruplar halinde plastik kaplarda (40 × 30 × 20 cm) kültüre alınmıştır. Kültüre alma işleminde önce kaplara yaklaşık 10 cm derinlikte odun talaşı konulmuş ve talaş üzerine meyve örnekleri bırakılmış ve kaplar tülbent bezi ile kapatılmıştır. Kaplar her hafta kontrol edilerek ergin çıkışları kaydedilmiştir.

Kışlama ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Toprak örneği alma: Çalışma Bursa ve Yalova illerinin 5 farklı lokasyonundan seçilen şeftali ve incir, Trabzon hurması bahçelerinde yapılmıştır (Çizelge 3). Nisan-mayıs aylarında toprak sıcaklığı 9.7 °C, hava sıcaklığının ise 17 °C yaklaştığı günlerde Boller ve Remund (1987)'e göre bahçeleri temsil edecek şekilde 10 ağaç seçilmiştir. Ağaçların 4 farklı yönünden her bahçe için 10 adet olmak üzere toplam 40 adet toprak örneği silindirik kaplarla (15 × 5 cm) en az 10 cm toprak derinliğinde alınmıştır. Alınan toprak örneklerinin alındığı yer ve toprak sıcaklıkları ayrı ayrı kaydedildikten sonra plastik kaplar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarında 60 mesh'lik elekten geçirilerek toprak örneklerinde zararlı pupaları aranmıştır. Daha sonra kültür kaplarında bu toprakların üzeri tül bezlerle kapatılarak laboratuvar koşullarında ergin çıkışı için bekletilmiştir.

Çizelge 3. *Ceratitıs capitata*'nın kışlama durumunu belirlemek için alınan toprak örneklerinin yeri, tarihi, meyve türleri ve koordinatları.

Table 3. Location, date, fruit species and coordinates of soil samples taken to determine the wintering potential of *Ceratitıs capitata*.

İl	İlçe	Köy	Meyve Türü	Tarih	Koordinatlar
Bursa	Mudanya	Işıklı	Dürdane inciri	28. 04. 2015	40°20'55.83"N
				09. 05. 2016	28°51'57.48"E
Bursa	Mudanya	Çepni	Dürdane inciri	28. 04. 2015	40°20'31.26"N
				09. 05. 2016	28°50'33.19"E
Bursa	Gürsu	Kumlukalan	Şeftali	28. 04. 2015	40°14'15.31"N
				09. 05. 2016	29° 9'12.91"E
Yalova	Merkez	Enstitü Bahçesi	Trabzon hurması	20. 04. 2015	40°39'36.32"N
				11. 05. 2016	29°17'54.22"E
Yalova	Merkez	Enstitü Bahçesi	Şeftali	20. 04. 2015	40°39'35.10"N
				11. 05. 2016	29°17'33.62"E

Pupaların Kafes Altında Alınması: Bunun için elma, ayva ve Trabzon hurması meyve bahçelerinden alınan kurtlu meyveler polietilen torbalar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Daha sonra içerisinde 5 cm kalınlığında odun talaşı bulunan plastik kaplara (30 × 40 × 25 cm) alınan meyve örnekleri tülbent bezi ile kapatılarak iklim odasında (26 ± 1 °C sıcaklık, %65 ± 5 nispi nem, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık) kültüre alınmıştır. Kültüre alınan meyve örneklerinden elde edilen pupalardan 400 adedi alt tarafında drenaj delikleri bulunan ve içerisine steril edilmiş bir kat (5 cm) taş parçaları, bir kat (5 cm) kum ve bir kat (5 cm) toprak konulmuş olan plastik saksılara (15 × 20 cm) el değmeden 20'şer adet bırakılarak üzeri 5 cm toprakla örtülmüştür. Daha sonra bu plastik saksılar Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitü'ne ait Trabzon hurması bahçesinde yerleştirilen üzeri 1 × 1 mm gözenek ebatlarındaki plastik sinek teli ile kaplı (2 × 2 × 2 m) kafes altındaki toprağa yüksekliğinin yaklaşık yarısına kadar (10 cm) toprağa gömülmüştür. Pupaları karıncalardan korumak amacıyla bu saksıların etrafı sinek teli ile sarılmıştır. Ertesi yıl mayıs

ayından itibaren ergin çıkışı kontrolleri kafes içerisine asılan delta tipi para-feromonlu tuzaklar ile her hafta yapılmıştır.

Enfekteli Meyvelerin Kafes Altına Bırakılması: Yalova ili Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitü bahçesinde ekim-kasım aylarında yere dökülmüş veya dalda kalmış olan zararlı larvaları ile bulaşık 200 adet Trabzon hurması ve 100'er adet ayva, elma ve armut meyveleri doğa koşullarında üzeri sinek teli ile kaplı kafesler (2 × 2 × 2 m) altındaki toprak üzerine bırakılmıştır. Ergin çıkışının takibi ertesi yıl mayıs – ağustos aylarında kafes içerisine asılan para-feromonlu delta tipi tuzaklarla her hafta yapılmıştır.

Meyve Ağaçlarının Kafes Altına Alınması: Bir yıl önceden zararlıının yoğun olarak tespit edildiği enstitü bahçesindeki 2 adet Trabzon hurması ağacı yaklaşık 20'şer m² toprak alanı ile 2018 yılı mart ayında sinek teli ile kaplı kafeslerin (4 × 4 × 4 m) altına alınmıştır. Ergin takibi kafes içerisine 1.7 m'ye asılan para-feromonlu delta tipi tuzaklarla mayıs-ekim aylarında her hafta yapılmıştır.

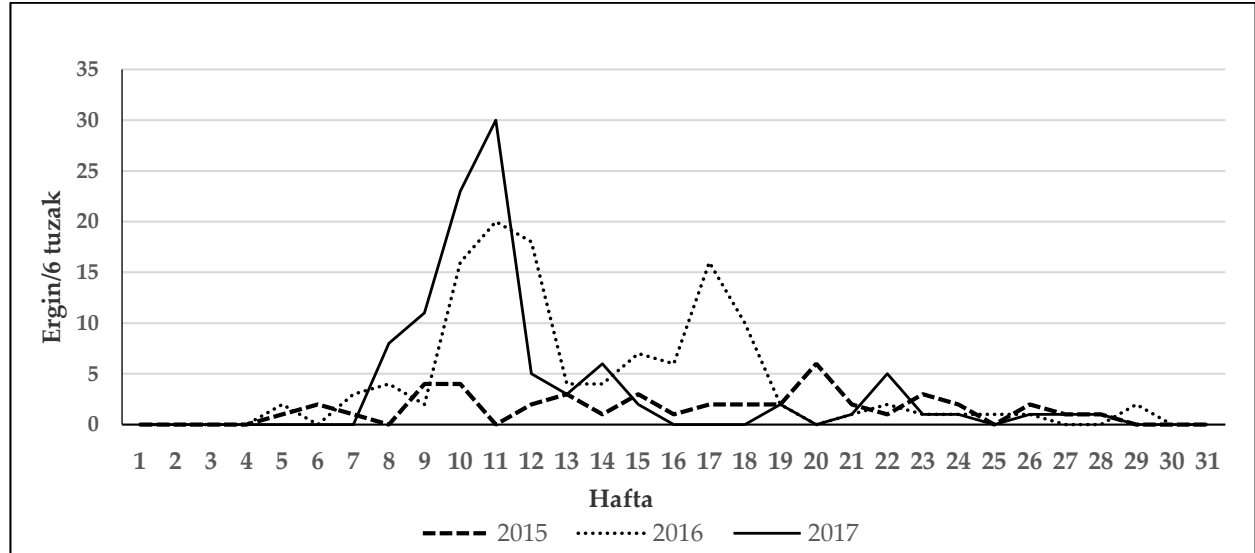
Meyve Kontrolü: Zararlıının meyve içerisinde larva döneminde kışlamasını belirlemek için elma (Golden çeşidi) bahçesinde kasım ayının ilk haftasında yere dökülmüş ve dalda kalmış olan 200 adet ıskarta meyve toplanarak laboratuvara getirilmiştir. Bu meyve örnekleri disekte edilerek içerisinde larva bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Dalda kalan ıskarta meyveler 4 adet şifon dal kafesine (30 × 60 cm) alınarak ertesi yıl haziran ayından itibaren ergin çıkışları takip edilmiştir.

Soğuk Hava Depolarında Kışı Geçirip Geçirmediğinin Belirlenmesi: Hava sıcaklığı 17 °C yaklaştığında Bursa ili Gürsu ilçesini temsil edecek şekilde seçilen 3 adet meyve deposuna ikişer adet para-feromonlu delta tipi tuzak mayıs ayında asılmış haftalık olarak kasım ayı sonuna kadar kontrol edilmiştir. Ayrıca her hafta atık meyve kontrolleri yapılarak zararlıının ergin öncesi biyolojik evreleri aranmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulaşma Yollarının Belirlenmesi

Sebze ve meyve hallerine asılan tuzaklar ile yapılan çalışma sonuçlarına göre; 2015'de Kocaeli ilinde 07. 09. 2015'de sadece bir ergin, Yalova ilinde ise yine sadece 26. 10. 2015 ve 02. 11. 2015'de birer ergin yakalanmıştır. Çalışmanın ikinci yılı olan 2016'da Kocaeli'nde 21. 09. 2016, 19. 10. 2016 ve 26. 10. 2016 tarihlerinde birer ergin, Yalova'da ise 28. 09. 2016 ve 05. 10. 2016'da iki ve bir ergin görülmüştür. Üçüncü yılda (2017) ise her iki lokasyonda da ergin yakalanmamıştır. Bursa ilindeki sebze-meyve halinde yapılan çalışmadaki popülasyon değişimi ise Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. *Ceratitis capitata*'nın Bursa sebze, meyve halindeki 2015, 2016 ve 2017 yıllarındaki popülasyon değişimi.

Figure 1. Population fluctuation of *Ceratitis capitata* in Bursa fruit and vegetable wholesale markets in 2015, 2016 and 2017.

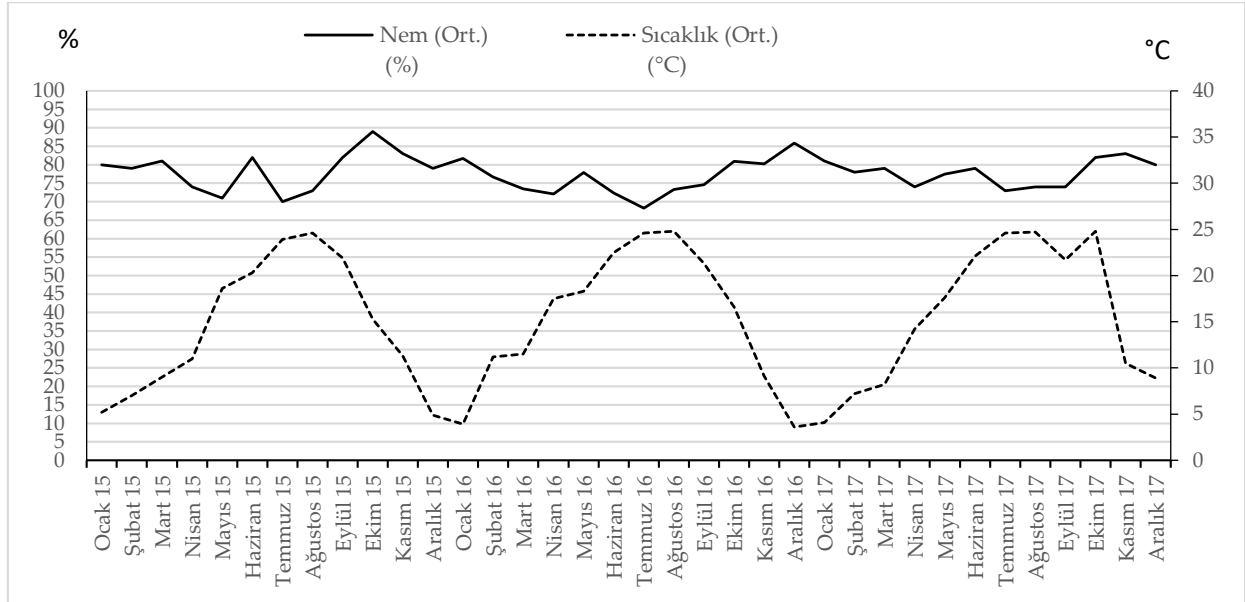
Bursa halinde yapılan çalışmanın birinci yılında ilk yakalanma tuzak asma tarihinden (12. 05. 2015) sonra beşinci haftada (09. 06. 2015) 1 birey 6 tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Bu tuzaklarda en yoğun yakalanma

yirminci haftada (17. 11. 2015) ortalama 6 ± 1.4 varyasyon katsayısı (CV) = %23.33 ve son yakalanma ise 28. haftada (17. 11. 2015) yine bir (1) ergin tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Bu alanda yapılan çalışmanın ikinci yılında (2016) tuzak asıldıktan (28. 04. 2016) sonra beşinci haftada (26. 05. 2016) ilk erginler (2 ergin 6 tuzak⁻¹) yakalanmıştır. En yoğun yakalanma 11. haftada (07. 07. 2016)'da ortalama 20 ± 7.07 ergin 6 tuzak⁻¹, CV = %35 ve son yakalanma ise 26. Haftada (10. 11. 2016) 2 ergin 6 tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Yine bu alanda 2017 yılında tuzaklar asıldıktan (04. 05. 2017) sonra 8. haftada (15. 06. 2017) ilk yakalanma (8 ergin 6 tuzak⁻¹) gerçekleşmiştir. En yoğun yakalanma 11. haftada (13. 07. 2017) ortalama $30 \pm 8,1$, CV = %27 ve son yakalanma ise 28. haftada (30. 11. 2017) 1 ergin 6 tuzak⁻¹) olarak kaydedilmiştir (Şekil 1).

Bursa ili meyve-sebze halinde satış değeri olmayan meyvelerin döküldüğü çöp alanına 12. 05. 2015'de asılan ve 15. 12. 2015'e kadar haftalık aralıklarla yapılan kontroller sonucunda iki tuzakta 04. 08. 2015 ve 10. 09. 2015 tarihlerinde birer adet olmak üzere toplam iki adet ergin yakalanmıştır. Aynı tarihlerde asılan ve kontrol edilen Yalova ilindeki çöp alanındaki tuzaklarda yakalanma olmamıştır. Çöp alanında ikinci yıl yapılan çalışmada; (28. 04. 2016 - 24. 11. 2016) iki tuzakta yıl boyunca sadece 10. 11. 2016'de bir adet ergin yakalanmıştır. Yalova ilinde ise aynı tarihlerde çöp alanında ergin yakalanmamıştır.

Bursa ilinde şehirlerarası yol kenarında bulunan bahçelere asılan tuzaklarda ilk yakalanma (13. 10. 2016) ortalama olarak 2 ergin 6 tuzak⁻¹, maksimum yakalamada (27. 10. 2016) ortalama 6 ergin 6 tuzak⁻¹, son yakalanmada (24. 11. 2016) ise 1 ergin tuzak⁻¹ kaydedilmiştir. Yol kenarına 05. 05. 2017'de asılan tuzaklarda ilk ve son yakalama 17. 10. 2017'de 2 ergin 6 tuzak⁻¹ olarak kaydedilmiştir.

Çalışma süresindeki üç yıllık aylık ortalama bağıl nem ve sıcaklık verileri Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Bursa ili 2015, 2016 ve 2017 yılı aylık ortalama sıcaklık ve % nem verileri.

Figure 2. Monthly average temperature and % humidity data in Bursa province in 2015, 2016 and 2017.

Bahçelere Bulaşmanın Belirlenmesi

Bursa ilinde yapılan çalışmalar

2015 yılında yapılan çalışmalar: Bursa ili Osmangazi ilçesi Seç ve Selçukgazi köylerinde 12. 05. 2015'de incir, nar, Trabzon hurması ve ayvaya asılan tuzaklarda hiç yakalanma olmamış ancak, aynı gün Dereçavuş köyünde şeftali bahçesine asılan tuzaklarda ilk yakalanma 20. 08. 2015'de ortalama 6 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 7, tuzak 2 = 5) olarak gerçekleşmiştir. Daha sonra 03. 09. 2015 tarihine kadar yakalanma olmamıştır. Bu köydeki tuzaklarda tepe noktası 12. 11. 2015'de ortalama 21 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 24, tuzak 2 = 18) ve en son yakalanma ise 11. 12. 2015'de ortalama 8 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 12, tuzak 2 = 4), olarak gerçekleşmiştir. Bu köydeki elma bahçesine (Granny Smith) asılan tuzaklarda, meyve kontrollerinde ve kültüre alınan meyvelerde AMS'nin herhangi bir biyolojik evresine rastlanılmamıştır. Gürsu ilçesi Kumlukalan köyündeki tuzaklarda ilk erginler 18. 08. 2015'de armutta 1 adet olarak yakalanmıştır. Adaköy ve Ağaköy'deki tuzaklarda ilk yakalanmalar her iki köyde de 20. 10. 2015'de armut ve şeftalide sırasıyla

ortalama 5 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 8, tuzak 2 = 2) ve 7 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 8, tuzak 2 = 6), tepe noktaları 16. 11. 2015 tarihinde armut ve şeftalide sırasıyla ortalama 11 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 12, tuzak 2 = 10) ve 14 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 16, tuzak 2 = 8), en son yakalanmalar ise 01. 12. 2015'de 1 ve 2 ergin olarak armutta gerçekleşmiştir. Yıldırım ilçesi Cumalıkızık köyündeki Trabzon hurması bahçelerine 18. 08. 2015'de asılan tuzaklarda ilk yakalanma 13. 10. 2015'de 3 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 5, tuzak 2 = 1), tepe noktası 27. 10. 2015'de 8 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 13, tuzak 2 = 3), son yakalanma 31. 11. 2015'de 1 adet ergin 2 tuzak⁻¹ olarak kaydedilmiştir.

2016 yılında yapılan çalışmalar: Osmangazi ilçesi Seç ve Selçukgazi köylerindeki meyve bahçelerinde nisan sonu ve mayıs başlarından kasım ayı sonuna kadar tuzaklarda yakalanma görülmemiştir. Dereçavuş köyündeki şeftali bahçesine 10. 06. 2016'da asılan tuzaklarda ilk yakalanma 22. 07. 2016'da ortalama 2 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1), tepe noktası 10. 10. 2016'de 26 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 33, tuzak 2 = 19) en son yakalanma ise 14. 11. 2016'da 15 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 18, tuzak 2 = 12) olarak gerçekleşmiştir. Gürsu ilçesi Kumlukalan köyündeki şeftali bahçesine 28. 04. 2016'da asılan tuzaklarda ilk erginler 04. 08. 2016'da ortalama 10 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 15, tuzak 2 = 5) olarak yakalanmıştır. Bu köyde elma ve armut bahçelerine 05. 05. 2016 ve ayva bahçesine ise 25. 08. 2016'da asılan tuzaklarda tepe noktaları şeftali, armut, elma ve ayvada sırasıyla ortalama 655 (tuzak 1 = 905, tuzak 2 = 405), 1055 (tuzak 1 = 1210, tuzak 2 = 900), 680 (tuzak 1 = 798, tuzak 2 = 562) ve 185 (tuzak 1 = 98, tuzak 2 = 87) ergin tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. En son yakalama ayva bahçesinde 24. 11. 2016 ortalama 3 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1=3, tuzak 2=1) görülmüştür. Bu köydeki tuzaklarda tepe noktası hariç ilk yakalanmadan (22. 07. 2016) son yakalanmaya (14. 11. 2016) kadar olan sürede ortalama 1 - 18 ergin tuzak⁻¹ olarak belirlenmiştir. Yıldırım ilçesi Cumalıkızık köyündeki Trabzon hurması bahçelerine 29. 07. 2016'da asılan tuzaklarda ilk yakalanma 01. 09. 2016'da 2 (tuzak 1 = 4, tuzak 2 = 0), tepe noktası 20. 10. 2016'da 106 (tuzak 1 = 112, tuzak 2 = 100), son yakalanma 24. 11. 2016'da 4 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 6, tuzak 2 = 2) olarak kaydedilmiştir.

2017 yılında yapılan çalışmalar: Osmangazi ilçesi Seç ve Selçukgazi köylerindeki meyve bahçelerinde nisan sonu ve mayıs başlarından kasım ayı sonuna kadar tuzaklarda yakalanma görülmemiştir. Gürsu ilçesi Kumlukalan köyündeki şeftali bahçesine 04. 05. 2017'de asılan tuzaklarda ilk erginler 07. 09. 2017'de 1 ergin 2 tuzak⁻¹ olarak yakalanmıştır. Bu köyde elma, armut ve ayva bahçelerine sırasıyla 12. 05. 2017, 12. 05. 2017 ve 24. 07. 2017'de asılan tuzaklarda ayvada ilk yakalanmalar 28. 09. 2017'de ortalama 1 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 2 tuzak 2= 0) elma ve armutta 19.10.2017'de sırasıyla 1'er ergin 2 tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Tepe noktaları 09. 11. 2017'de şeftali, armut, elma ve ayvada sırasıyla ortalama 7 (tuzak 1 = 8, tuzak 2 = 6), 10 (tuzak 1 = 12, tuzak 2 = 8) 3 (tuzak 1 = 5, tuzak 2 = 1) ve 4 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1= 5, tuzak 2 = 3) olarak görülmüştür. En son yakalama ayva bahçesinde 23. 11. 2017'de ortalama 1 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 1, tuzak 2 = 1) kaydedilmiştir. Yıldırım ilçesi Cumalıkızık köyündeki Trabzon hurması bahçelerine 13. 07. 2017'de asılan tuzaklarda ilk yakalanma 05. 10. 2017'de ortalama 2 (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1), tepe noktası 02. 11. 2017'de 10 (tuzak 1 = 12, tuzak 2 = 8), son yakalanma 23. 11. 2017'de 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 2) ergin tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir.

Kocaeli ilinde yapılan çalışmalar

2015 yılında yapılan çalışmalar: Kartepe ilçesinin Eşme köyünde 07. 05. 2015'de ayva bahçelerine asılan tuzaklarda 05.10. 2015 ve 26. 10. 2015'de birer adet ergin yakalanmış ve daha sonra yakalanma olmamıştır. Karamürsel Akçat ve Gölcük İhsaniye köylerinde hiç yakalanma olmamıştır. Gebze ilçesi Demirciler köyündeki 10 da'lık karışık meyve ağaçlarına 31. 07. 2015 tarihinde asılan tuzaklarda ortalama 2 (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1) ergin yakalanmıştır. Bu tuzaklarda 30.09.2015'den sonra yakalanma olmamıştır. Kocaeli ili Karamürsel ilçesi Akçat köyü ile Gölcük ilçesi İhsaniye köylerinde kiraz, şeftali ve armut bahçelerine asılan tuzaklarda ve meyve örneklerinde zararlıya rastlanılmamıştır.

2016 yılında yapılan çalışmalar: Kartepe ilçesinin Eşme köyünde ayva bahçesine 03. 05. 2016'da asılan tuzaklarda ilk yakalanma 01. 08. 2016'da ortalama 1 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 0), tepe noktası 19. 09. 2016'da 2 (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1) ve en son yakalanma ise 24. 10. 2016'da 1 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 1, tuzak 2 = 1) olarak yakalanmıştır. Gölcük ilçesi Hisareyn köyünde şeftali ve armut bahçelerine asılan tuzaklarda ilk yakalanma 19. 07. 2016'da 1 ergin 2 tuzak⁻¹, tepe noktası 3 ergin 2 tuzak⁻¹, son yakalanma ise 08. 10. 2016'da 1 ergin 2 tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Bu köyde 2 tuzakta yıl boyunca toplam 9 ergin yakalanmıştır. Gebze ilçesi Demirciler köyünde şeftali ve armut bahçelerine asılan 05. 07. 2016'da asılan tuzaklarda ilk yakalanma 31. 08. 2016'da 1 ergin 2 tuzak⁻¹ olarak yakalanmıştır. Tuzaklarda 1 ergin 2 tuzak⁻¹'dan fazla

yakalanma olmamış en son yakalanma 26. 10. 2016'da görülmüş toplam olarak tuzaklarda 4 ergin yakalanmıştır. Kocaeli ilinin Karamürsel ve Gebze ilçelerindeki meyve bahçelerinde nisan sonu ve mayıs başlarından kasım ayı sonuna kadar tuzaklarda yakalanma görülmemiştir.

2017 yılında yapılan çalışmalar: Kocaeli ili Gölcük ilçesi Hisareyn köyü ve Kartepe ilçesi Eşme köyünde 10. 05. 2017'de şeftali bahçelerine asılan tuzaklarda yakalanma kasım ayına kadar olmamıştır. Ancak aynı tarihlerde Gölcük ilçesi Hisareyn köyü armut bahçelerine asılan tuzaklarda ilk yakalanma 17. 10. 2017'de 1 ergin 2 tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiş ve 24. 10. 2017'de ortalama 4 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 6, tuzak 2 = 2) ve iki tuzakta birer ergin yakalandıktan sonra zararlı bir daha tuzaklarda görülmemiştir. Kartepe ilçesi Balaban köyünde 24. 10. 2017'de Trabzon hurmasında 1 ergin 2 tuzak⁻¹ ve Eşme köyünde 27. 10. 2017'de yine 1 ergin 2 tuzak⁻¹ olarak yakalanma görülmüştür.

Yalova ilinde yapılan çalışmalar

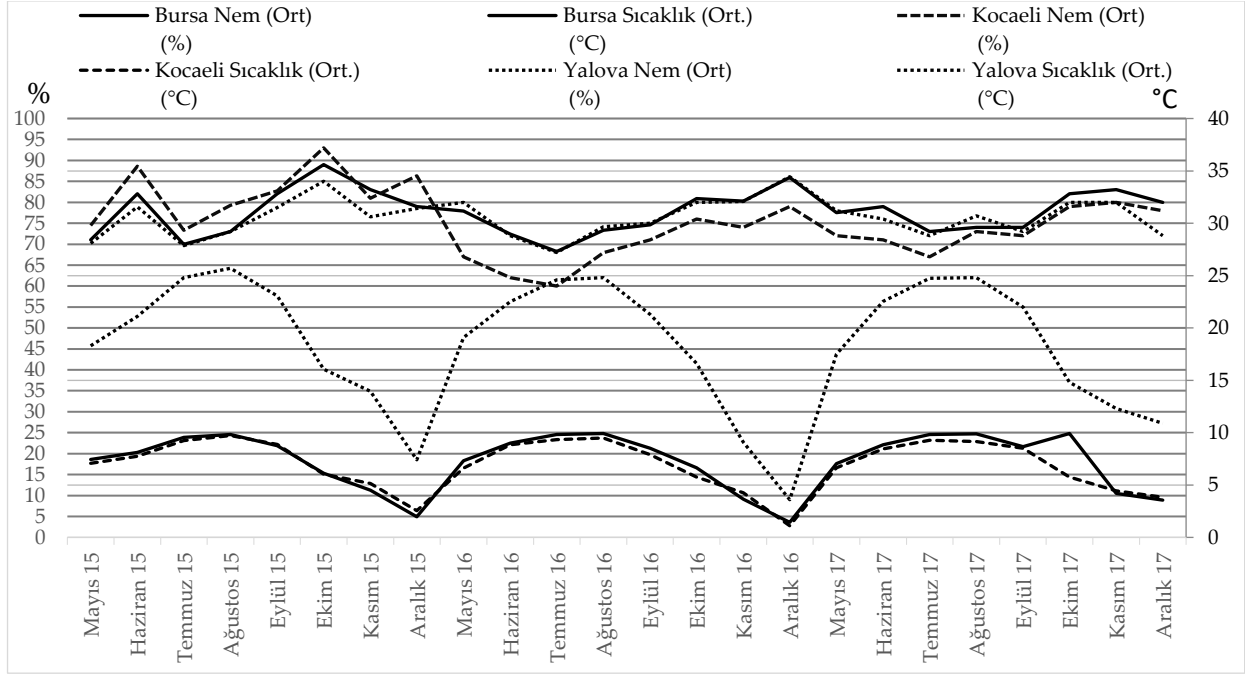
2015 yılında yapılan çalışmalar: Yalova ilinde enstitü bahçesindeki şeftali ağaçlarına 20. 04. 2015 de asılan tuzaklarda ilk yakalanma iki tuzakta bir adet ergin olarak 06.07.2015'de gerçekleşmiştir. Bu tarihten itibaren 23. 11. 2015 tarihine kadar tuzaklarda yakalanma görülmüş tepe noktası olarak ortalama 183 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 248, tuzak 2 = 118) olarak 12.10.2015'de gerçekleşmiştir. Armut, incir, elma, ayva ve Trabzon hurması ağaçlarına asılan tuzaklarda ise ilk yakalanmalar sırasıyla 07. 09. 2015, 28. 09. 2015 ve 05. 10. 2015'de ortalama 2 (tuzak 1 = 4, tuzak 2 = 0), 4 (tuzak 1 = 5, tuzak 2 = 3), 14 (tuzak 1 = 15, tuzak 2 = 13), 3 (tuzak 1 = 5, tuzak 2 = 1), 8 (tuzak 1 = 9, tuzak 2 = 7) ergin tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Tepe noktaları ortalama olarak armutta 05. 10. 2015'de 34 (tuzak 1 = 44, tuzak 2= 22), elmada 12. 10. 2015'de 21 (tuzak 1 = 25, tuzak 2 = 17), incirde 12. 10. 2015'de 8 (tuzak 1 = 10, tuzak 2 = 6), Trabzon hurmasında 19. 10. 2015'de 280 (tuzak 1 = 310, tuzak 2 = 250) ergin tuzak⁻¹ olarak kaydedilmiştir. En son yakalanma elmada 16. 11. 2015'de 2 (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1) armut, incir, ayva ve Trabzon hurması 30. 11. 2015'de sırasıyla 2'şer (tuzak 1 = 4, tuzak 2 = 0), (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 2), (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1), (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1) ergin tuzak⁻¹ olarak kaydedilmiştir.

2016 yılında yapılan çalışmalar: Yalova ilinde enstitü kiraz, erik, kayısı bahçelerine 07. 06. 2016, şeftali, armut bahçelerine 19. 07. 2016, 19. 07. 2016, elma bahçesine 09. 08. 2016, ayva, üzüm ve Trabzon hurması 16. 08. 2016'da asılan tuzaklarda ilk yakalanmalar 05. 07. 2016, 30. 08. 2016, 16. 08. 2016, 19. 07. 2016, 02. 08. 2016, 16. 08. 2016, 06. 09. 2016, 06. 09. 2016, 13. 09. 2016 ve 06. 09. 2016'da sırasıyla 14 (tuzak 1 = 15, tuzak 2 = 13), 1 (tuzak 1 =2, tuzak 2 = 0), 2 (tuzak 1 = 4, tuzak 2 = 0), 8 (tuzak 1 = 10, tuzak 2 = 6), 11 (tuzak 1 = 15, tuzak 2 = 7), 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 2), 14 (tuzak 1 = 18, tuzak 2 = 10), 1 (tuzak 1 = 1, tuzak 2 =1), 1 (tuzak 1 = 1, tuzak 2 =), 26 (tuzak 1 = 28, tuzak 2 = 24) ergin tuzak⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Tepe noktaları sırasıyla 17 (tuzak 1 = 21, tuzak 2 = 13), 22 (tuzak 1 = 27, tuzak = 17), 27 (tuzak 1 = 33, tuzak 2 = 21), 602 (tuzak 1 = 653, tuzak 2 = 549), 513 (tuzak 1 = 576, tuzak 2 = 450), 106 (tuzak 1 = 124, tuzak 2 = 88), 527 (tuzak 1 = 810, tuzak 2 = 244), 180 (tuzak 1 = 241, tuzak 2 = 119), 61 (tuzak 1 = 64, tuzak 2 = 58) ve 755 (tuzak 1 = 900, tuzak 2 = 610) ergin tuzak⁻¹ olarak sırasıyla 12. 07. 2016, 20. 09. 2016, 20. 09. 2016, 18. 10. 2016, 15. 11. 2016, 11. 10. 2016, 08. 11. 2016 15. 11. 2016, 08. 11. 2016 ve 08. 11. 2016 tarihlerinde yakalanmıştır. En son yakalanmalar ise 26. 07. 2016, 20. 09. 2016, 04. 10. 2016, 22. 11. 2016, 29. 11. 2016, 29. 11. 2016, 29. 11. 2016, 29. 11. 2016, 29. 11. 2016 ve 29. 11. 2016 sırasıyla 2 (tuzak 1 = 1, tuzak 2 = 1), 22 (tuzak 1 = 27, tuzak 2 = 17), 7 (tuzak 1 = 8, tuzak 2 = 6), 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2=2), 72 (tuzak 1 = 98, tuzak 2 = 46), 301 (tuzak 1 = 510, tuzak 2 = 92), 7 (Tuzak 1= 8, tuzak 2 = 6), 2 (tuzak 1 = 4, tuzak 2 = 0), 61 (tuzak 1 = 64, tuzak 2 = 58) ve 18 (tuzak 1 = 20, tuzak 2 = 16) ergin tuzak⁻¹ olarak kaydedilmiştir. Kiraz ve erikte zararlı ilk yakalandığı tarihten itibaren 4 hafta, kayısıda ise 8 hafta yaklaşık ortalama olarak 10 ergin tuzak⁻¹ olarak görülmüştür. Üzümde zararlı 12 hafta süreyle haftalık olarak yaklaşık 15 ergin tuzak⁻¹ yakalanmıştır.

2017 yılında yapılan çalışmalar: Yalova ilinde enstitü kiraz, erik, kayısı, şeftali, armut, elma, incir, ayva, üzüm ve Trabzon hurması bahçelerine sırasıyla 07. 04. 2017, 07. 04. 2017, 14. 04. 2017, 05. 05. 2017, 27. 06. 2017, 27. 06. 2017, 04.07.2017, 11. 07. 2017, 11. 07. 2017 ve 18. 07. 2017'de asılan tuzaklarda kiraz, erik ve kayısıda hiç yakalanma olmamıştır. Şeftali, armut, elma, incir, ayva, üzüm ve Trabzon hurması bahçelerinde ise ilk yakalanmalar 15. 08. 2017, 29. 08. 2017, 29. 08. 2017, 29. 08. 2017, 19. 09. 2017, 17. 10. 2017, 12. 09. 2017 tarihlerinde sırasıyla 2 (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1), 2 (tuzak 1 = 3, tuzak 2 = 1), 4 (tuzak 1 = 5, tuzak 2 = 3), 7 (tuzak 1 = 9, tuzak 2 = 5), 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 2), 1 ergin 2 tuzak⁻¹ ve 4 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 6, tuzak 2 = 2) olarak gerçekleşmiştir. Tepe noktaları ortalama olarak sırasıyla 127 (tuzak 1 = 162, tuzak 2 = 92), 7

(tuzak 1 = 9, tuzak 2 = 5), 33 (tuzak 1 = 48, tuzak 2 = 18), 15 (tuzak 1 = 21, tuzak 2 = 9), 13 (tuzak 1 = 19, tuzak 2 = 7), 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 0) ve 43 ergin tuzak⁻¹ (tuzak 1 = 65, tuzak 2 = 21) olarak sırasıyla 17. 10. 2017, 14. 11. 2017, 17. 10. 2017, 14. 11. 2017, 07. 11. 2017, 21. 11. 2017 28.11.2017 tarihlerinde gerçekleşmiştir. En son yakalanmalar ise ayva, elma ve Trabzon hurması bahçesinde ortalama 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 2), 2 (tuzak 1 = 2, tuzak 2 = 2) ve 2 (tuzak 1= 3, tuzak 2 = 1) ergin tuzak⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda Bursa ve Yalova'daki şeftali, incir, elma, armut, Trabzon hurması ve ayva Kocaeli'de şeftali armut ve elma bahçelerindeki tuzaklarda yakalanmalar genellikle temmuz sonu ve ağustos ayının ilk haftasında, yoğun yakalanma ise eylül-ekim ve kasım ayında gerçekleşmiştir. Tuzaklarda erginler aralık ayının ikinci haftasına kadar görülmüştür. Çalışma süresindeki üç yıllık aylık ortalama bağıl nem ve sıcaklık verileri Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. Bursa, Kocaeli ve Yalova illeri 2015, 2016 ve 2017 yılları aylık ortalama sıcaklık ve bağıl nem verileri.

Figure 3. Monthly average temperature and % humidity data in Bursa, Kocaeli and Yalova provinces in 2015, 2016 and 2017.

Meyvelerin Kültüre Alınması

Bahçeleri temsil edecek şekilde hasat öncesi veya sonrasında yere dökülmüş ve ticari değer taşımayan dalda kalmış meyvelerden alınan meyve örneklerinden şeftali, elma, armut, Trabzon hurması ve ayvada zararlı erginleri elde edilmiş, zeytin, kiraz, erik, kayısıda ise elde edilmemiştir. İncirde ise sadece yere dökülen meyvelerde ergin çıkışları görülmüştür.

İlek İncir ile Bahçelere Bulaşmanın Belirlenmesi

Ege Bölgesinden dölleyici olarak bölgeye getirilen ilek incirlerden AMS çıkışı olmamış ancak *Silba adipata* McAlpine, (Diptera: Lonchaeidae) erginleri elde edilmiştir.

Zararlının Bölge Koşullarında Kışlaması ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Toprak Örneği Alma

Zararlının kışı pupa evresinde toprakta kışlayıp kışlamadığını belirlemek için Boller ve Remund (1987)'ye göre 28. 04. 2015 ve 09. 05. 2016'da Bursa, 20. 04. 2015 ve 11. 05. 2016'da Yalova illerindeki incir, şeftali, ayva ve Trabzon hurması meyve bahçelerinden alınan toprak örneklerine ait bilgiler Çizelge 4 ve 5'de verilmiştir.

Beş farklı lokasyondan ve beş farklı meyve türünün bulunduğu meyve bahçelerinin toprağının 10 - 12 cm derinliğinden alınan örneklerin sıcaklıkları 2015 yılında 12 ± 0.7 °C - 17.8 ± 0.8 °C ve 2016 yılında ise 12.9 ± 0.6 °C - 17 ± 0.7 °C arasında değişmiştir. Çalışma süresinde alınan ve laboratuvarda elekten geçirilen 100

adet toprak örneğinde zararlı pupaları görülmemiştir. Bu toprak örneklerinden kültüre alınması sonucunda ergin elde edilmemiştir.

Çizelge 4. *Ceratitis capitata*'nın kışlama durumunu belirlemek için alınan toprak örneklerinin yeri, tarihi, sıcaklık ortalamaları ve standart sapmaları (2015).

Table 4. Location, date, temperature averages and standard deviations of soil samples taken to determine the overwintering capacity of *Ceratitis capitata* (2015).

Yeri	Meyve türü	Toprak Sıcaklık Ortalamaları (°C) ve Standart Sapmaları										
Işıklı köyü Mudanya-Bursa	İncir	14.0±0.7	15.5±0.7	17.3±0.5	17.8±0.8	17.0±0.9	17.5±0.8	17.3±0.7	17.8±0.9	16.9±0.9	16.7±0.8	
Çepni köyü Mudanya-Bursa	İncir	13.9±0.8	14.5±0.8	16.3±0.9	15.8±0.9	14.0±0.9	16.5±0.8	16.8±0.8	17.8±1.0	16.9±0.7	16.4±0.7	
Kumlukalan Gürsu-Bursa	Ayva	14.0±0.8	14.6±0.6	14.4±0.7	14.8±0.7	14.6±0.9	14.1±0.6	14.8±0.9	14.4±0.9	14.3±0.9	13.8±0.6	
Ağaköy Gürsu-Bursa	Şeftali	12.9±0.6	13.4±0.8	14.8±0.7	14.6±0.9	12.9±0.7	13.2±0.9	14.2±0.9	14.0±0.7	13.8±0.8	12.8±0.4	
Enstitü bahçesi Yalova	Şeftali	12.8±0.8	12.6±0.7	12.4±0.7	12.8±0.7	12.6±0.7	12.0±0.8	13.1±0.9	12.4±1.0	12.4±0.9	12.8±0.7	
Enstitü bahçesi Yalova	Trabzon hurması	12.4±0.9	12.4±0.8	12.8±0.7	12.6±0.9	12.0±0.7	12.2±0.8	13.2±0.9	12.0±0.8	13.4±0.9	12.4±0.7	

Çizelge 5. *Ceratitis capitata*'nın kışlama durumunu belirlemek için alınan toprak örneklerinin yeri, tarihi, sıcaklık ortalamaları ve standart sapmaları (2016).

Table 5. Location, date, temperature averages and standard deviations of soil samples taken to determine the overwintering capacity of *Ceratitis capitata* (2016).

Yeri	Meyve türü	Toprak Sıcaklık Ortalamaları (°C) ve Standart Sapmaları										
Işıklı köyü Mudanya-Bursa	İncir	13.0±0.7	16.0±0.7	14.3±0.9	16.8±0.8	17.0±0.7	16.4±0.9	15.3±0.8	15.8±0.7	14.9±0.8	15.7±0.6	
Çepni köyü Mudanya-Bursa	İncir	12.9±0.6	14.5±0.9	16.0±0.6	15.8±0.7	14.3±0.9	16.0±0.7	14.5±0.8	15.8±0.8	14.9±0.9	15.4±0.7	
Kumlukalan Gürsu-Bursa	Ayva	13.0±0.8	13.6±0.7	14.4±0.7	13.8±0.7	14.6±0.9	14.0±0.9	13.1±0.6	14.4±0.9	13.9±0.9	13.8±0.7	
Ağaköy Gürsu-Bursa	Şeftali	12.9±0.6	13.4±0.8	14.8±0.7	14.6±0.9	12.9±0.7	13.2±0.9	14.2±0.9	14.0±0.7	13.8±0.8	13.6±0.9	
Enstitü bahçesi Yalova	Şeftali	13.0±0.8	13.6±0.8	14.2±0.7	13.8±0.8	14.0±0.8	15.0±0.8	15.1±0.7	14.4±0.9	14.2±0.9	14.0±0.7	
Enstitü bahçesi Yalova	Trabzon hurması	13.4±0.7	13.8±0.8	13.6±0.9	14.2±0.6	14.2±0.7	14.0±0.9	15.2±1.0	15.0±0.8	14.4±0.7	14.4±0.9	

Pupaların Kafes Altında Alınması

Bu çalışmalar 2015 kasım - aralık, 2016 haziran - ağustos, 2016 kasım - aralık, 2017 haziran - ağustos aylarında yapılmıştır. Yine aynı dönemde kafes altındaki saksı toprağının 3 - 5 cm derinliğine bırakılan zararlı pupalarında da ergin çıkışı gerçekleşmemiştir. Yine; bu konuda zararlının yoğun olarak tespit edildiği Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsüne ait Trabzon hurması bahçesindeki 2 ağaç (20 m² toprak alan) 2018 yılı mart ayında sinek teli ile kafes altına alınmış ve ergin takibi para-feromon trimedlure'lu delta tipi tuzaklar ile 2018 yılı mayıs-ekim aylarında haftalık olarak yapılmış ancak ergin çıkışı olmamıştır. Meyvede kışlama ihtimaline karşı Enstitü bahçesinde yere dökülen ve dalda bırakılan Golden elma çeşidi 2018 yılı kasım ayının ilk haftasında incelenmiş ve meyvelerin çoğunluğunun çürüdüğü, çürümekte olan meyvelerde de larva bulunmadığı saptanmamıştır. Meyve depolarında yapılan çalışmalarda o dönemde depolarının tamamında depolanmış meyve bulunmadığı belirlenmiştir.

Enfekteli Meyvelerin Kafes Altına Alınması

Doğal koşullarda etrafı sinek teli ile kaplı kafes altındaki toprak yüzeyine kışlaması için bırakılan AMS larvası ile bulaşık şeftali, armut, elma, Trabzon hurması ve ayva meyvelerinden ergin çıkışı olmamıştır. Kafese asılan para-feromonlu delta tipi tuzaklarda ergine toprakta ise pupaya rastlanmamıştır.

Meyve Ağaçlarının Kafes Altına Alınması

Bir yıl önceden zararlının yoğun olarak tespit edildiği enstitü Trabzon hurması bahçesinde sinek teli ile kaplı kafes altındaki iki ağaçtaki para-feromonlu delta tipi tuzaklarda mayıs - kasım aylarında erginine rastlanılmamıştır.

Meyve Kontrolü: Elmada hasat sonrasında kasım ayında yapılan çalışmada meyve içerisinde larva tespit edilmemiştir. Yine dal kafes çalışmalarında da ergin çıkışı görülemedi.

Soğuk hava depolarında kışı geçirip geçirmediğinin belirlenmesi: Bursa ili Gürsu ilçesi Kumluk alan köyündeki üç farklı meyve deposunda mayıs - kasım ayında yapılan tuzak kontrolü ve atık meyvelerin incelenmesi sonucunda zararlının herhangi bir biyolojik evresi tespit edilmemiştir

Akdeniz meyvesineği konusunda Marmara Bölgesinde daha önce kapsamlı bir çalışma yapılmamış sadece Bursa ili incir bahçelerinde yere dökülen meyvelerde birkaç (3 – 5) *C. capitata* ergini saptanmıştır (Gençer vd., 2005). Dünyaya Afrika Sahrasından yayılan bu zararlı, başta Kuzey ve Güney Afrika (Uganda, Zambia, Kenya, Tanzanya, Zimbabve) olmak üzere, Güney ve Orta Amerika (Brezilya, Hawaii, Florida, California, Arjantin, Bermuda, Costa Rica, Uruguay) ve Batı Avustralya gibi tropik, subtropik iklimlere sahip olan ülkelerde, Türkiye de ise Akdeniz ve Ege Bölgelerinde yaygın olarak görülmektedir (Elekçioğlu, 2009; İleri, 1961; Thomas vd., 2007). Bu çalışma sonucunda da; AMS'nin bazı evreleri Bursa, Kocaeli ve Yalova illerindeki bazı meyve bahçelerinde yaz ve sonbahar aylarında görülmüştür. Erginler meyve bahçelerindeki tuzaklarda ilk kez temmuz ayı sonlarında veya ağustos ayının son iki haftasında, bazen de eylül ayının ilk haftasında yakalanmıştır. Bursa'daki meyve ve sebze halindeki tuzaklarda daha erken mayıs ve haziran aylarının ikinci haftaları arasında, yoğun yakalanma ise temmuz ayının birinci ve ikinci haftası ile eylül ayının üçüncü haftası arasında değişmiş, en son yakalanma ise kasım ayının üçüncü ve son haftasında görülmüştür. Yalova ve Kocaeli meyve hallerindeki tuzaklarda ise eylül ve ekim aylarında 1 - 2 ergin gibi düşük sayıda yakalanma olmuştur. Ancak bu iki meyve ve sebze hali ve çevresinin yıl boyunca hijyen amaçlı ilaçlandığı gözlemlenmiştir. Zararlının doğada görülmesi sıcaklık, nispi nem ve konukçu bolluğuna bağlı olarak bölgelere göre değişiklik gösterebilmektedir. Türkiye'de Elazığ ve Malatya illerinde erginlerin doğada ilk görülmesi haziran - ağustos, Iğdır ilinde eylül ayının ilk haftası, Çanakkale'de ise ekim - kasım aylarına rastlamakta, (Buğday ve Keçeci, 2020; Tamer ve Yıldırım, 2023; Tiftikçi, 2020) buna karşın iklim koşulları bakımından zararlının biyolojisine daha elverişli olan Akdeniz Bölgesinde nisan mayıs, Ege Bölgesinde haziran, Akdeniz Bölgesinin iç kesimlerinde ise (Isparta ve Burdur) temmuz, ağustos aylarına denk gelmektedir (Başpınar vd., 2009; Elekçioğlu, 2013b; Tiring ve Satar, 2017; Zeki vd., 2008). Akdeniz meyvesineği iklim koşullarına bağlı olarak belirli bir zaman diliminde farklı yerlerde farklı biyolojik dönemlerinde bulunabilir (Carey, 1984). Akdeniz Bölgesindeki portakal bahçelerinde ilk erginler nisan ayının son haftasında görülürken, altıntop bahçelerinde ise ocak ayının üçüncü haftasında görülmekte ve tuzaklarda yakalanmalar mart ayının üçüncü haftasına kadar sürmektedir (Elekçioğlu, 2009, 2013b; Satar vd., 2016). Akdeniz Bölgesi iklim koşullarının AMS'nin gelişimi için elverişli olması ve bu nedenle zararlının neredeyse bu bölgede yıl boyunca faal olması, Marmara Bölgesinde ise ilk yakalanmaların sebze-meyve hallerinde mayıs ve haziran, meyve bahçelerinde ise temmuz sonu ve ağustos, bazen de eylül aylarında yakalanması zararlının bölgeye yıl boyunca aktif ve konukçularının bol olduğu bölgeden enfekteli meyveler ile taşındığına işaret etmektedir. Zararlının bölge koşullarında larva veya pupa döneminde kışı geçirmesi ile ilgili çalışmalardan da herhangi bir bulgu elde edilememesi bu tezi güçlendirmektedir.

Kışlama çalışmaları ile ilgili olarak şeftali ve Trabzon hurması bahçelerinden toprak örneklerinin alınması ve laboratuvarında pupa aranması, kafes altına larva ile bulaşık meyvelerin (ayva, elma ve Trabzon hurması) bırakılması, meyve ağaçlarının kafes altına alınması, kafes altında saksı içerisinde toprağa pupa konulması sonucunda zararlının doğa koşullarında kışladığına dair herhangi bir bulgu elde edilmemiştir. Larva döneminde elmalarda kışlaması ile ilgili olarak kasım ayının ilk haftasında dalda kalan veya yere dökülmüş olan Granny Smith ve Golden Delicious elma (*Malus domestica*) çeşitlerinde yapılan diseksiyonlarda sadece Golden Delicious çeşidinde zarar yaptığı ancak larvaların meyveyi terk ettiği ve yere dökülen ve dalda kalan elmaların %95'nin tamamen çürüdüğü belirlenmiş ve dal kafesi altına alınan meyvelerden de ergin çıkışı görülmemiştir. Bu zararlı ılıman iklim koşullarında kışı larva veya pupa döneminde geçirmektedir (Elekçioğlu, 2013b; Satar vd., 2016). Akdeniz iklimine göre daha serin bölgelerde

ise (Isparta ve Burdur) kış ayının başına kadar ayva meyveleri içerisinde larva döneminde canlı kalabilmekte, ancak kışı geçirememektedir (Zeki vd., 2008). Yine Türkiye'nin farklı lokasyonlarında (Kırşehir, Malatya) doğada kışı geçirememektedir (Buğday ve Keçeci, 2020; Kaya ve İpekda, 2018). Papadopoulos vd., (1996)'ya göre Yunanistan'ın kuzey kesimlerinde (40.3 paralele kadar) sadece larva döneminde elma meyvesi içerisinde az da olsa kışı geçirebilmekte ve bu bireylerden ertesi yıl popülasyon oluşabilmektedir. Bu bölgede popülasyon sıcaklıkların çok düşük olduğu aralık - haziran ayları arasında hiç görülmemektedir. Bu dönemde pupa ve larvaların çoğunluğu soğuktan ölmekte ve ilkbahara çok düşük sayıda erginleri ulaşmaktadır. Bu erginleri de ilkbaharda paraferomon tuzaklarla tespit etmek de oldukça zor olmaktadır (Papadopoulos vd., 1998, 2000). Kışı elma içerisinde çok azda olsa larva döneminde geçirebildiği ve ertesi yıl popülasyon oluşturduğuna dair sonuçlar bu çalışmada olduğu gibi Kaya ve İpekda (2018), İsraily (2004)), Inmaculada (2010) ve Rivnay (1954) tarafından da desteklenmemiştir. Şöyle ki, Rivnay (1954)'e göre AMS kışı İsrail'in yüksek kesimlerinde geçiremez, buralarda yaz aylarında görülen popülasyon düşük rakımlı bölgelerden çeşitli yollarla gelen erginler tarafından oluşturulur. İsrail'de farklı yükseltilerde kafes altında doğal koşullarda larva ile bulaşık elmalarda yapılan çalışma sonuçlarına göre de; AMS kışı soğuk olan lokasyonlarda ergin ve ergin öncesi dönemlerde geçirememiştir (İsraily vd., 2004). Laboratuvar koşullarında üretilen ve salınımı yapılan AMS erginlerinin tuzaklarda nisan - mayıs aylarında yakalanması bu zararlının bu aylarda yaşayabildiğini ve yenedünya gibi yerel konukçuları istila edebildiğini göstermiştir (İsraily vd., 2004). İspanya'da ise Girona meyve yetiştirme alanlarından doğal koşullarda toplanan AMS larvası ile bulaşık elmalarda zararlı kasım sonu ve ocak ayı başlarına kadar canlı kalmış, ancak kışı geçirememiştir (Inmaculada, 2010). Türkiye'de Kırşehir ilinde de bu konuda yapılan çalışmada kışı geçiremediği belirlenmiştir (Kaya ve İpekda, 2018). Bu bulgulara paralel olarak zararlı erginleri Marmara Bölgesinde hava sıcaklıklarının 16 °C (Demirdere, 1961), üzerinde olduğu nisan - mayıs ve haziran aylarında (Şekil 3), meyve bahçelerindeki tuzaklarda üç yıl üst üste hiç yakalanmamıştır. Bu aylarda olgun dönemdeki kiraz, kayısı, erik gibi meyve türlerinde zarar görülmemiştir. Meyve ve sebze hallerinde zararlı erginlerinin mayıs sonu ve haziran başında yakalanması bölgeye zararlının enfekteli meyveler ile gelme olasılığını güçlendirmektedir. Nitekim İsraily vd (2004) ve Rivnay (1954)'e göre de zararlının kışı geçiremediği bölgelerde yaz aylarında görülmesinin nedeni; AMS'nin ılıman iklimlere sahip alanlardan göç veya bulaşık meyvelerin transfer edilmesi nedeniyle. Zaten, diğer tropikal kökenli meyve sineği türleri gibi, AMS' de soğuğa dayanıklılık mekanizmasına sahip değildir (Bateman, 1972; Carey 1984; Christenson ve Foote 1960; Greenberg, 1960).

Akdeniz meyvesineğinin konukçuları ülkeden ülkeye ve bölgeden bölgeye değişiklik gösterebilmektedir. Bu konukçuların bir bölümü ekonomik kayıplara yol açacak şekilde zarar görmekte, bir bölümü ise sadece bulaşma düzeyinde kalmaktadır. Genellikle ince kabuklu ve olgun meyveleri tercih ettiklerinden pek çok ülkede ekonomik öneme haiz birçok meyve türünde zarar oluşmaktadır (Anonim, 2008; Bircan vd., 2020; Özkan, 1993; Thomas vd., 2007;). Marmara bölgesinde ise şeftali, elma, armut, Trabzon hurması ve ayvada zararlı saptanmış, zeytin, kiraz, erik, kayısıda görülmemiştir. İncirde ise sadece yere dökülen meyvelerde ergin çıkışları görülmüştür. Bu zararlı bölgede belirli bir zaman diliminde görülmüş olsa da önemli meyve türlerinin konukçusu olması nedeniyle mücadele stratejisinin belirlenmesi açısından önem taşıdığı görülmüştür.

Bulaşma kaynağını belirlemek amacıyla meyve depoları ve meyve suyu fabrikalarında yapılan çalışmalar sonucunda gerek tuzaklarda ve gerek meyve kontrollerinde zararlının herhangi bir biyolojik dönemi tespit edilmemiştir. Hallerdeki çöp alanında ise sadece 1 - 2 ergin görülmüştür. Ayrıca İzmir ve Aydın illerinden getirilen ve kültüre alınan ilek incirlerden AMS çıkışı olmamış ancak *S. adipata* erginleri elde edilmiştir. Elma, ayva ve Trabzon hurması bahçelerinde hasadın geciktirilmesi, meyvelerin dalda bırakılması ve yere düşen meyvelerin toplanmaması popülasyon artışına neden olmuştur. Nitekim zararlı yumurtalarını atık meyvelere de bırakarak popülasyon oluşturmakta ve temiz alanlara enfekteli meyvelerle taşınmaktadır (Elekçioğlu, 2013b; EPPO, 2011; 2018; Zeki vd., 2008).

SONUÇ

Sonuç olarak, Bursa, Kocaeli ve Yalova illeri meyve bahçeleri yaz ve sonbahar aylarında AMS ile bulaşık bulunmuş, meyve sebze hallerinin de bulaşma kaynağı olduğu belirlenmiştir. Çöp alanları ile meyve suyu atık alanlarında zararlının çok az (1 - 2 ergin) bulunduğu bazı yıllar hiç bulunmadığı, bölgede kışı

geçiremediği, İzmir ve Aydın illerinden ilekleme amacıyla bölgeye getirilen incirlerden AMS'nin bulaşmadığı ancak *S. adipata*'nın bulaştığı görülmüştür. İç karantina önlemlerinin alınması, meyve-sebze hallerinde sanitasyonun sağlanması, hasat sonrasında yere dökülen ve hasat edilmeden dalında bırakılan ticari değer taşımayan meyvelerin imhası gibi kültürel önlemlerin alınması durumunda bölgede zararlının sorun oluşturamayacağı kanısına varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

GÇ: Çalışmayı planlamış, arazi ve laboratuvar çalışmalarını yapmış, makaleyi yazmış; PHG: Arazi ve laboratuvar çalışmalarını yapmış; CH: Arazi çalışmalarını yapmış; MEA: Arazi çalışmaları yapmıştır.

TEŞEKKÜR

Sebze-meyve halleri ve meyve bahçelerindeki çalışmalara destek sağlayan Bursa ve Kocaeli Büyükşehir Belediye Başkanlığı, Hal Müdürlüklerine, Bursa, Kocaeli, Yalova İl Tarım ve Orman Müdürlüklerine, çalışma boyunca katkı sunan Bursa, İl Tarım ve Orman Müdürlüğü teknik elemanlarından Uğur EKMEKÇİ, Alaattin ÇAVUŞOĞLU, Dr. Kıymet Senan COŞKUNCU, Kocaeli İl Tarım ve Orman Müdürlüğü teknik elemanlarından Mehmet Veysel AYHAN ve Serdar MEMİŞ'e teşekkürü borç biliriz.

KAYNAKLAR

- Anonim, (2008). *Zirai mücadele teknik talimatları*, Subtropik meyve zararlıları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, Cilt 5, 301 s.
- Başpınar, H., Çakmak, İ., Koçlu T., & Başpınar, N. (2009). Aydın ili meyve bahçelerinde Akdeniz meyve sineği, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nin biyo-ekolojisi, zararı, yayılışı ve turuncgil bahçelerinde savaşımı üzerinde çalışmalar. <http://ulakbim.tubitak.gov.tr>, Proje no: 105 O 178, Sonuç raporları, 47 s. [Erişim tarihi: 05.11.2018].
- Bateman, M. A. (1972). The ecology of fruit flies. *Annual Review Entomology*, 17, 493-518. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.17.010172.002425>.
- Bircan, B., Koca, A. S., & Kaçar, G. (2020). Akdeniz meyvesineği (*Ceratitis capitata* Wiedemann)(Diptera: Tephritidae)'nin tanımı, dağılımı, biyolojisi, zararı ve mücadele yöntemleri. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(4), 2353-2365. <https://doi.org/10.21597/jist.691427>.
- Boller, E. F., & Remund, U. (1987). *Qualitative and quantitative life-table studies in Rhaagoletis cerasi L. in Northwest Switzerland. Fruit flies of economic importance*. Proceedings of the CEC/IOBC International Symposium, April 7-10. Rome, Italy.
- Buğday, M., & Keçeci, M. (2020). Studies on some bio-ecological parameters and damage status of Mediterranean fruit fly in Elazığ and Malatya province. *Horticultural Studies*, 37 (1), 64-75.
- Carey, J. R. (1984). Host-specific demographic studies of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Ecological Entomology*, 9, 261-270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1984.tb00850.x>.
- Christenson, L. D., & Foote, R. H. (1960). Biology of fruit flies. *Annual Review Entomology*, 5, 171-192. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.05.010160.001131>.
- Demirdere, A. (1961). *Studies on biology and control of Mediterranean fruit fly in Çukurova Region* [PhD. Thesis]. Ankara University, Ankara.
- Elekçioğlu, N. Z. (2009). Akdeniz meyvesineği. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 2(1), 61-65.
- Elekçioğlu, N. Z. (2013a). Fruit flies of economic importance in Turkey, with special reference to Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.) *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 6 (2): 33-37.
- Elekçioğlu, N. Z. (2013b). Current status of Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), in Turkey. *Integrated control in citrus fruit crops, IOBC-WPRS Bulletin*, 95, 15-22.
- EPPO, (2011). EPPO Global Database, OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. <https://gd.epppo.int/taxon/CERTCA/documents.Pdf> [Erişim Tarihi: 05 Kasım2018].
- EPPO, (2018). EPPO Global database, Datasheet on *Ceratitis capitata*. <https://gd.epppo.int/taxon/CERTCA/documents.Pdf> [Erişim Tarihi: 05 Kasım 2018].
- Gençer, N. S., Coşkun, K. S., & Kumral, N. A. (2005). Bursa ilinde incir bahçelerinde görülen zararlı ve yararlı türlerin saptanması. *On dokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2), 24-30.
- Greenberg, A. (1960). A stately approach for the Mediterranean fruit fly control. *Hassadeh*, 40, 1184-1185.
- Inmaculada E. P. M. (2010). *Biology studies and improvement of Ceratitis Capitata (Wiedemann) mass trapping control technique* [Ph.D. thesis]. School of Agricultural and Forestry Engineering, University of Lleida, Spain.

- Israely, N., Ritte, U., & Oman, S. D. (2004). Inability of *Ceratitıs capitata* (Diptera: Tephritidae) to overwinter in the Judean hills. *Journal Economical Entomology*, 97(1), 33-42. <https://doi.org/10.1093/jee/97.1.33>.
- İleri, M. (1961). *Türkiye'de Akdeniz meyve sineği durumu ve mücadelesi*. Tarım Bakanlığı, Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Müdürlüğü. Yayını, Ankara, 38 s.
- Kahyaoğlu, M. & Gürkan, M. O. (2010). Akdeniz meyvesineği [*Ceratitıs capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae)] için yeni hazır yem formülasyonlarının geliştirilmesi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 35(3), 485-494.
- Kaya, T., & İpekdağ, K. (2018). Akdeniz meyvesineği, *Ceratitıs capitata* (Diptera: Tephritidae)'nın Kırşehirde'ki ilk kaydı ve barkodlanması. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 31(2): 101-105.
- Kızılyamaç, S. (2016). *Farklı yükseltilerdeki Akdeniz meyvesineği, Ceratitıs capitata Wiedemann (Diptera: Tephritidae) popülasyonlarının biyo - ekolojisi üzerine araştırmalar* [Yüksek Lisans Tezi]. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Liquido, N. J., Shinoda, L. A., & Cunningham, R. T. (1991). Host plants of Mediterranean fruit fly: an annotated world review (miscellaneous publication 77). *Entomological Society of America*, 52.
- Malacrida, A. R., Gomulski, L. M., Bonizzoni, M., Bertin S., Gasperi, G. & Guglielmino C. R. (2007). Globalization and fruitfly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica*, 131, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10709-006-9117-2>.
- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Hendrichs, J., Carey, C. R., & Heath, R. R. (2000). Early detection and population monitoring of *Ceratitıs capitata* (Diptera: Tephritidae) in a mixed-fruit orchard in Northern Greece. *Journal*.
- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., Carey, J. R. (1998). Temporal changes in the composition of the overwintering larval population of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. *Annals of the Entomological Society of America*, 91, 430-434. <https://doi.org/10.1093/aesa/91.4.430>.
- Papadopoulos, N. T., Carey, J. R., Katsoyannos, B. I., & Kouloussis, N. A. (1996). Overwintering of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. *Annals of the Entomological Society of America*, 89, 526-534. <https://doi.org/10.1093/aesa/89.4.526>.
- Ricalde, M. P., Nava, D. E., Loeck, A. E., & Donatti, M. G. (2012). Temperature-dependent development and survival of Brazilian populations of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitıs capitata*, from tropical, subtropical and temperate regions. *Journal of Insect Science*, 12(1), 33. <https://doi.org/10.1673/031.012.3301>.
- Rivnay, E. (1954). The Mediterranean fruit Fly, *Ceratitıs capitata* Wied.; studies on its toxicants, mass migration, and control in Israel. *Ktavim* 4, 3-38.
- Özkan, C. (1993). *Doğu Akdeniz bölgesinde Akdeniz meyve sineği, Ceratitıs capitata (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nın konukçu değişimi üzerinde araştırmalar* [Yüksek Lisans Tezi]. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Satar, S., G. Tiring, D. İşınar, & Algan, A. R. (2016). *Ceratitıs capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae)'nın altıntop bahçelerinde popülasyon dalgalanması ve sıcaklığın gelişimine etkisi. *Bitki koruma Bülteni*, 56(4), 429-440. <https://doi.org/10.16955/bkb.00044>.
- Tamer, E., & Yıldırım, E. (2023). Iğdır ili meyve bahçelerinde *Ceratitıs capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritida)'nın popülasyon gelişimi, yoğunluğu ve bulaşıklık oranının belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26 (3) , 560-569. DOI: 10.18016/ksutarimdog. vi.1155618.
- Tiftikci, P. (2020). Akdeniz meyve sineği *Ceratitıs capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nın elma bahçelerinde popülasyon değişimleri üzerinde araştırmalar. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33 (2) , 201-206 . DOI: 10.29136/mediterranean.701455.
- Tiring, G. & Satar, S. (2017). *Ceratitıs capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nın bazı meyve bahçelerinde popülasyon dalgalanması. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 7(3), 29-37. <https://doi.org/10.16969/entoteb.381234>.
- Tiring, G. (2015). *Ceratitıs capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae)'nın Balcılı (Adana)'da farklı meyve bahçelerindeki popülasyon dalgalanması ve laboratuvar koşullarında sıcaklığın gelişme süresine etkisi [Yüksek Lisans Tezi]. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Thomas, M. C., Heppner, J. B., Woodruff, R. E., Weems, H. V., Steck, G. J., & Fasulo, T. R. (2007). Mediterranean fruit fly, *Ceratitıs capitata* (Wiedemann) (Insecta: Diptera: Tephritidae). *University of Florida, IFAS Extension EENY*, 214-219. <https://doi.org/10.32473/edis-in371-2001>.
- Tosun, A. (2016). *Doğu Akdeniz bölgesi yayla ve ova bölgesindeki Ceratitıs capitata Wiedemann (Diptera: Tephritidae) popülasyonlarının mitokondriyal DNA bölgelerindeki (COI-COII) varyasyonların araştırılması* [Yüksek Lisans Tezi], Çukurova Üniversitesi, Adana.
- TUİK, (2021). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. [Erişim Tarihi: 14 Temmuz 2022].
- Zeki, C., Er, H., Özdem, A., & Bozkurt, V. (2008). Distribution and infestation of Mediterranean fruit fly (*Ceratitıs capitata* Wied.) (Diptera: Tephritidae) on pome and stone fruits in Isparta and Burdur provinces (Turkey). *Munis Entomology and Zoology*, 3(1), 231-238.



The Role of Storage Duration and Conditions on the Survival and Pathogenicity of Entomopathogenic Nematodes

Depolama Süresi ve Koşullarının Entomopatojen Nematodların Canlılığı ve Patojenitesi Üzerindeki Rolü

Onur Aki¹, Ebubekir Yüksel², Mustafa İmren³, Refik Bozbuğa⁴,

Ramazan Canhilal⁵

Received: 15.05.2023

Accepted: 14.06.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: Entomopathogenic nematodes (EPNs) (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) are effective biocontrol agents for many insect pests and are generally stored for a period of time prior to their use in the laboratory or field. However, unfavorable storage conditions have a great impact on the survival and infectivity of EPNs. This study was conducted to determine the optimum storage conditions of infective juveniles (IJs) of four native EPN species (*Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H, *H. indica* 216-H, *Steinernema feltiae* KCS-S, and *S. bicornotum* MGZ-4S) under laboratory conditions. The survival capability of the IJs was tested at different concentrations (500, 1000, 1500, and 2000 IJs), temperatures (9 and 25 °C) and storage media [double-distilled water (ddH₂O), tap water, and sterile Ringer solution]. In general, the survival of IJs of tested EPN species was the highest at the 1st month after treatment (MAT) at the concentrations of 1000 and 1500 IJs and gradually decreased with the increasing storage periods. The survival rates of the IJs of Steinernematids were generally higher than Heterorhabditid species. The highest survival of IJs was generally obtained after 1-month storage in Ringer solution at 9°C while tap water led to poor survival for the IJs at both temperatures tested. The IJs that were stored at 9°C induced higher mortalities on the larvae of *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). The results showed that the IJs of tested EPN species can remain viable for a longer period of time in Ringer solution at 1000 and 1500 IJs concentrations at 9°C without losing much of their infectivity.

Keywords: Storage, Beneficial Nematodes, Biological Control, Sustainable Agriculture

&

Öz: Entomopatojen nematodlar (EPN) (Rhabditida: Heterorhabditidae ve Steinernematidae) birçok zararlı böceklerin etkili biyokontrol ajanlarıdır ve genellikle laboratuvarda veya arazide kullanılmadan önce belirli bir süre depolanırlar. Bununla birlikte, elverişsiz saklama koşullarının EPN'lerin hayatta kalması ve infektivitesi üzerinde büyük bir etkisi vardır. Bu çalışma, dört yerel EPN türünün (*Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H, *H. indica* 216-H, *Steinernema feltiae* KCS-4S ve *S. bicornotum* MGZ-4S) infektif juvenillerinin (IJ) laboratuvar koşullarında optimum saklama koşullarını belirlemek için gerçekleştirilmiştir. IJ'lerin canlılıkları, farklı konsantrasyonlarda (500, 1000, 1500 ve 2000 IJ), sıcaklıklarda (9 ve 25 °C) ve depolama ortamında (ddH₂O, musluk suyu ve steril Ringer solüsyonu) test edilmiştir. Genel olarak, test edilen EPN türlerine ait IJ'lerin canlılıkları, 1000 ve 1500 IJ konsantrasyonlarında depolamadan sonraki 1. ayda en yüksek iken artan depolama süreleri ile kademeli olarak azalmıştır. Genel olarak Steinernematidlerin IJ'lerinin hayatta kalma oranları Heterorhabditid türlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. IJ'lerin en yüksek hayatta kalma oranı, genellikle Ringer solüsyonunda 9°C'de 1 aylık depolamadan sonra elde edilirken, musluk suyu, test edilen her iki sıcaklıkta da IJ'ler canlılıklarında önemli bir düşüşe neden olmuştur. Patojenite testlerinde, 9°C'de depolanan IJ'ler, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarında daha yüksek ölüm oranlarına neden olmuştur. Sonuçlar, test edilen EPN türlerine ait IJ'lerin, infektivitelerinde ciddi bir düşüş olmadan 9°C'de, 1000 ve 1500 IJs konsantrasyonlarında, Ringer solüsyonunda daha uzun süre canlı kalabildiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Depolama, Faydalı Nematodlar, Biyolojik Mücadele, Sürdürülebilir Tarım

Cite as: Aki, O., Yüksel, E., İmren, M., Bozbuğa, R. & Canhilal, R. (2022). The Role of Storage Duration and Conditions on the Survival and Pathogenicity of Entomopathogenic Nematodes. International Journal of Agriculture and Wildlife Science, 9(2), 176-185. DOI: 10.24180/ijaws.1297111

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Onur Aki, Erciyes University, Plant Protection Department, onur_aki38@hotmail.com

² Assist. Prof. Dr. Ebubekir Yüksel, Erciyes University, Department of Plant Protection, ebubekiryuksel@erciyes.edu.tr (Corresponding author)

³ Prof. Dr. Mustafa İmren, Bolu Abant İzzet Baysal University, Department of Plant Protection, mustafaimren@ibu.edu.tr

⁴ Assoc. Prof. Dr. Refik Bozbuğa, Eskişehir Osmangazi University, Department of Plant Protection, refik.bozbuga@ogu.edu.tr

⁵ Prof. Dr. Ramazan Canhilal, Erciyes University, Department of Plant Protection, r_canhilal@hotmail.com

* This study is a part of OA.'s Master's thesis at the Graduate School of Natural and Applied Sciences of Erciyes University

INTRODUCTION

Entomopathogenic nematodes (EPNs) in the families Heterorhabditidae and Steinernematidae are soil-borne microscopic worms that are used as a natural and eco-friendly alternative to insecticides (Hazir et al., 2003). Many studies proved the effectiveness of EPNs against a variety of agricultural pests in both laboratory and field conditions (Ansari et al., 2006; Susurluk et al., 2009; Kepenekci et al., 2016; Odendaal et al., 2016; Mokrini et al., 2020). However, the effectiveness of EPNs is closely linked to their ability to infect and kill pests, which is influenced by a variety of factors, including pre-application storage conditions (Grewal, 2000; Andaló et al., 2010, 2011). Differences in storage conditions and durations lead to a reduction in the quality of the infective juveniles (IJs) of different EPN species depending on the different storage factors such as oxygen and optimal temperature requirements of species (Qiu and Bedding, 2000). For example, high storage temperature can affect the metabolic rate of IJs, reducing stored energy reserves, which greatly affects the survival and pathogenicity of IJs (Hass et al., 2002; Andaló et al., 2011).

For research purposes, IJs are usually stored at varying concentrations from 300 to 5000 IJ/mL in tissue culture flasks as aqueous suspensions of water, distilled water, and Ringer's solutions and can remain alive for 3-12 months depending on the susceptibility of the EPN species/isolates to the above stressors (Kaya and Stock, 1997; Gülcü and Hazir, 2012). Therefore, understanding these parameters which affect the survival and pathogenicity of EPNs in storage is an important aspect to consider and crucial to achieving successful biological control (Brown and Gaugler, 1997). Hence, the main objective of this study was to determine the effect of different storage conditions and media on the viability, pathogenicity, and reproduction of local EPN species.

MATERIAL AND METHOD

Nematode culture

Four native EPN species (*Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H, *H. indica* 216-H, *Steinernema feltiae* KCS-S, and *S. bicornotum* MGZ-4S) isolated from Kayseri and Nevşehir provinces (Canhilal et al., 2017) were cultured on the last instar of the greater wax moth *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) which reared on artificial diet described by Metwally et al., 2012. To obtain new batches of IJs, the stock culture of IJs was inoculated to Petri dishes containing ten larvae at the concentration of 200 IJs/ml. The freshly emerged IJs were harvested daily after the dead larvae were transferred to modified White Traps (Prabhuraj et al., 2000). The harvested IJs were stored in double distilled water (ddH₂O). Only 1-week-old IJs were included in experiments as the age of IJs may affect the tested parameters.

Experimental set up

The survival capability of IJs of EPN species were evaluated in three different storage media [ddH₂O (Control), tap water, and sterile Ringer solution] at the concentrations of 500, 1000, 1500, and 2000 IJs/mL (Kaya and Stock, 1997). The experiments were carried out in culture flasks (Medium Volume 15-22.5 ml) filled up to 20 ml and the flasks were kept horizontally at two different temperatures (9 and 25 °C). Prior to the experiment, the mobility of IJs was checked under a stereomicroscope to determine the viability of IJs. The IJs populations having 99% population viability were included in the experiments. The number of alive IJs was counted using a Zeiss Lumar stereomicroscope (Carl Zeiss, Inc.) by withdrawing 1 mL samples from each flask and recorded after different storage periods (1, 2, 3, and 6 months) for each test temperature. During the experiment, IJs were shaken twice daily to avoid sinking to the bottom. In the pathogenicity bioassays of IJs, 1 mL of samples from flasks were taken and 200 IJs were inoculated to Petri dishes lined with two filter papers after counting the alive IJs under a stereomicroscope for each storage period. Then, ten *G. mellonella* larvae were placed into Petri dishes. The Petri dishes were incubated in the dark at 25 °C and the mortality of larvae was recorded 2 days after application (DAT). Dead larvae were transferred to modified White traps to confirm the pathogenicity of IJs. Four replicates were performed for each tested parameters (Survival and pathogenicity).

Statistical Analysis

Prior to statistical analyzes, data were subjected to normality tests and analyzed using IBM SPSS software program [Version 20.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)]. Significant differences among treatments were determined by Repeated measures ANOVA (RMANOVA) using Tukey's test at $P \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Survival of infective juveniles

The survival of IJs of tested EPN species was strongly influenced by all examined parameters and their associated interactions. In general, the survival of IJs of tested EPN species was higher at the 1st MAT (Month after treatment) and gradually decreased with the increasing storage periods. The IJs stored at 1000 and 1500 IJs concentrations generally yielded the highest survival rates among other concentrations tested. Survival of the IJs of tested EPN species in the Ringer solution was higher than of those stored in tap water and distilled water. The mortality of IJs was higher at 25 °C than at 9°C in all treatments and concentrations. The survival of IJs of tested EPN species was generally lower in tap water media than distilled water and Ringer solution with a few exceptions (Figure 1, 2, 3, 4). No significant mortalities occurred in the IJs of *H. indica* at c after 1-month storage among different storage media and concentrations. After 1-month storage, the survival rates of IJs significantly decreased and the lowest survival (15%) of IJs of *H. indica* occurred in tap water at 2000 IJs concentrations at 25 °C after 6-month storage (Figure 1).

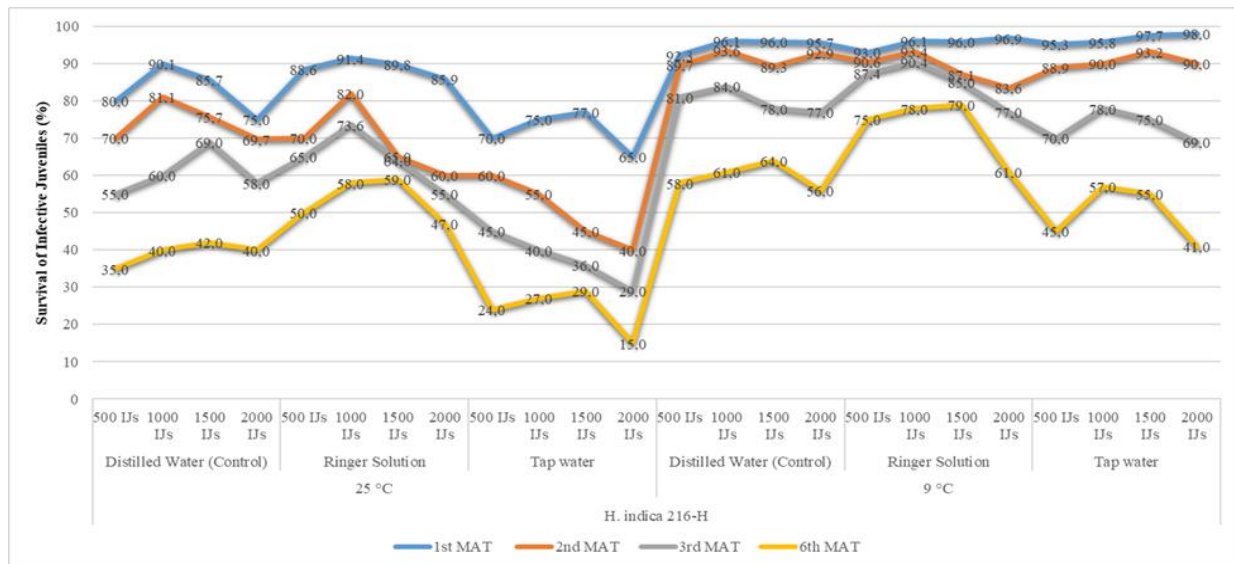


Figure 1. Survival rates (%) of infective juveniles of *Heterorhabditis indica* 216-H after different storage conditions and periods.

Şekil 1. Farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Heterorhabditis indica* 216-H'nin infektif juvenillerinin canlılık oranları.

Among all tested concentrations, *S. feltiae* had the greatest survival (81%) in Ringer solution at 1000 IJs at 9°C after 6-month storage (Figure 2). There were no significant changes in the survival rates of IJs of *S. feltiae* in distilled water at 500 and 1000 IJs concentrations at 9°C for the 1st, 2nd, and 3rd months after treatment.

However, survival rates decreased sharply at 9°C after 6-month storage in distilled and tap water (Figure 2). The survival of IJs of *H. bacteriophora* was higher in the Ringer solution at all storage periods than in distilled and tap water at all tested concentrations and temperatures except for 1-month storage at 9°C. After 6-month storage in tap water, the survival of IJs of *H. bacteriophora* was the lowest (8%) at 25°C at 2000 IJs concentration compared to other storage conditions. The highest survival rate (43%) of IJs of *H. bacteriophora* at 25°C after the 6-month storage period was at 1500 IJs concentration (Figure 3).

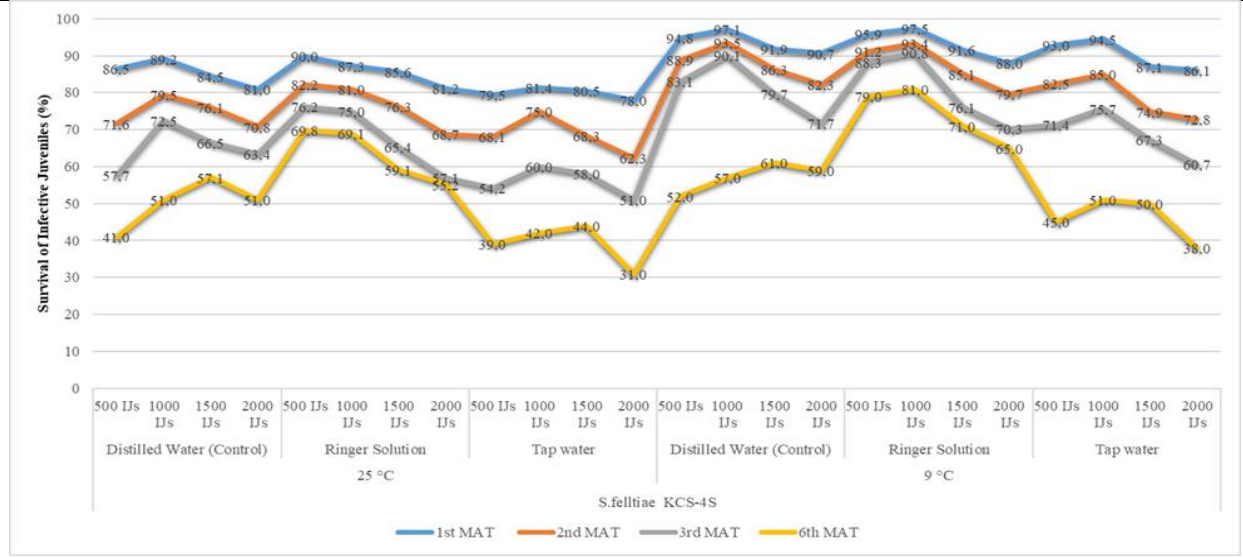


Figure 2. Survival rates (%) of infective juveniles of *Steinernema feltiae* KCS-4S after different storage conditions and periods.

Şekil 2. Farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Steinernema feltiae* KCS-4S'nin infektif juvenillerinin canlılık oranları.

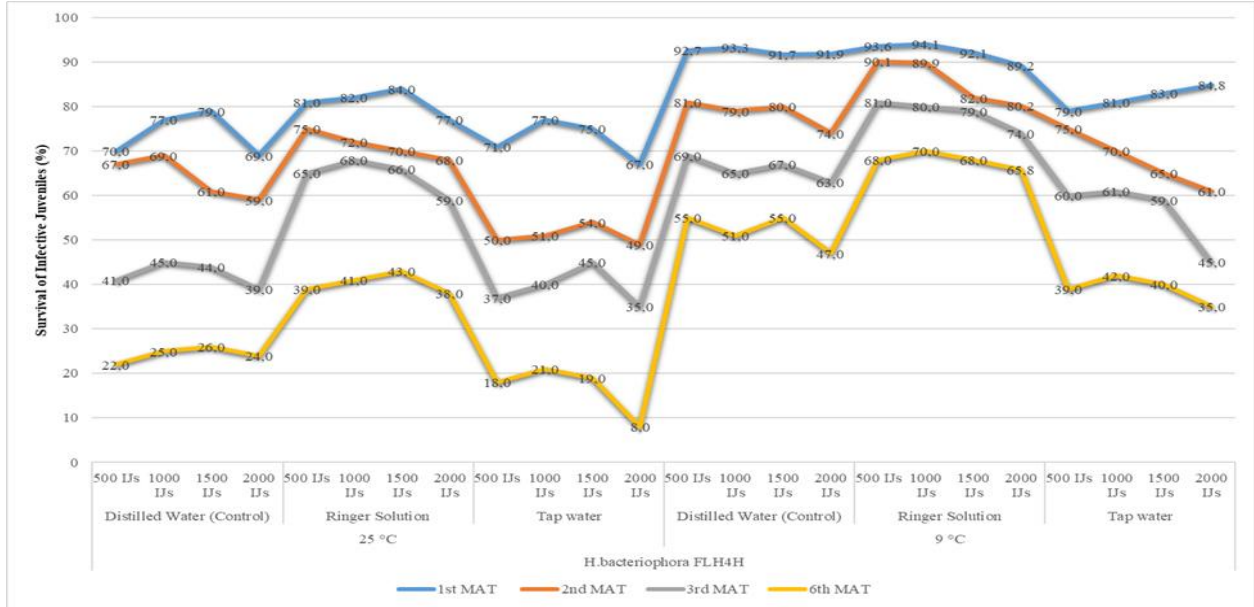


Figure 3. Survival rates (%) of infective juveniles of *Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H after different storage conditions and periods.

Şekil 3. Farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H'nin infektif juvenillerinin canlılık oranları.

The survival of IJs of *S. bicornotum* did not differ significantly at 9°C and 25°C for the 1st and 2nd-month storage at all IJs concentrations and storage media. However, after 3rd and 4th-month storage at 9°C and 25°C remarkable decrease occurred in the survival of IJs in tap water at both temperatures tested. The highest survival rate of IJs of *S. bicornotum* was recorded in Ringer solution at 9°C at 500 IJs concentration after 2, 3, and 6-month storage periods (Figure 4).

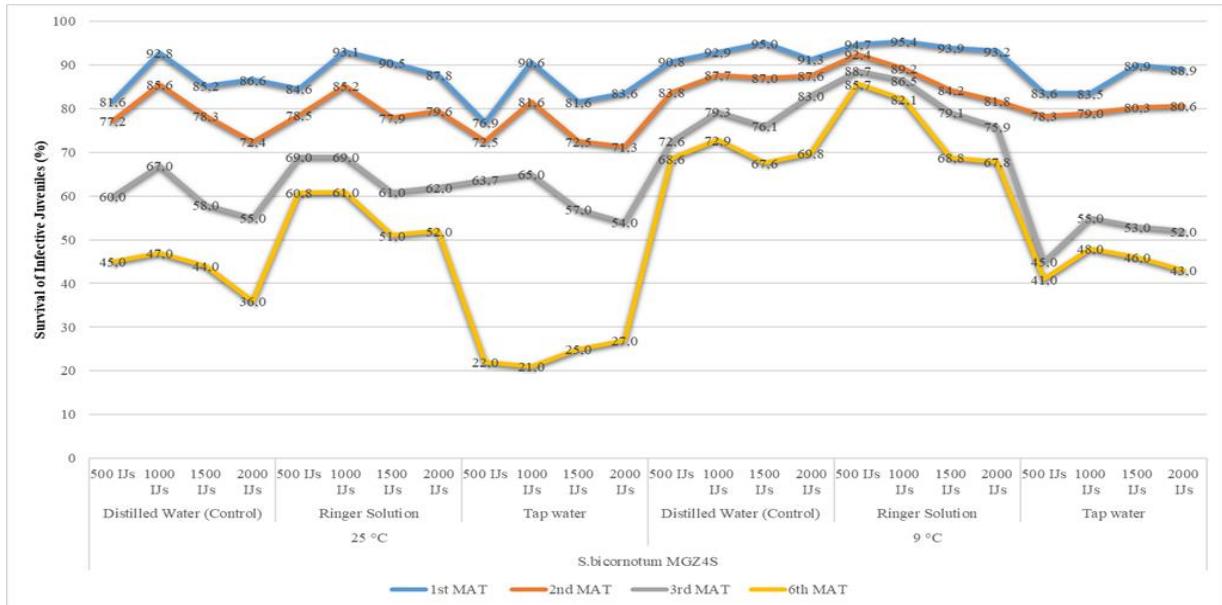


Figure 4. Survival rates (%) of infective juveniles of *Steinernema bicornotum* MGZ-4S after different storage conditions and periods.

Şekil 4. Farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Steinernema bicornotum* MGZ-4S'in infektif juvenillerinin canlılık oranları.

Pathogenicity of infective juveniles

In general, the IJs that were stored at 25 °C caused lower mortality rates on the *G. mellonella* larvae except for the IJs of *H. bacteriophora* which induced similar mortality at temperatures tested. The pathogenicity of IJs tended to decrease with the increasing length of storage of IJs (Figure 5, 6, 7, 8). However, there were several exceptions to this trend. For example, the IJs of *H. indica* stored for 6 months in the Ringer solution at 1500 IJs at 9 °C caused slightly higher mortality than those held for 3 months (Figure 5).

Although the pathogenicity of IJs did not vary much according to the storage environment, the highest efficiencies were generally obtained from the Ringer solution and followed by distilled water and tap water (Figure 5, 6, 7, 8). For instance, the highest effectiveness of the IJs of *H. indica* at 25 °C was achieved by the IJs stored at 1000 IJs concentration in the Ringer solution. The IJs of *H. indica* after a 6-month storage duration in Ringer solution were able to induce mortality over 70% (Figure 5).

The lowest pathogenicity (5%) on the larvae of *G. mellonella* was observed in the IJs of *S. feltiae* which was stored in tap water for 6 months at 25 °C at 2000 IJs concentration. The highest mortality (100%) was achieved by the IJs that were stored in distilled water and Ringer solution at the concentrations of 1000 IJs (Figure 6). *H. bacteriophora* was the least affected EPN species from the storage temperature in terms of pathogenicity. However, the maximum mortalities were achieved only by the IJs that were stored in the Ringer solution at 500 IJs at 9 °C (Figure 7). The pathogenicity of *S. bicornotum* on *G. mellonella* larvae did not change much for different storage concentrations at 25 °C. In addition, 3 months of stored IJs in tap water at 25 °C induced higher larval mortality compared to those stored for 1 and 2 months (Figure 8).

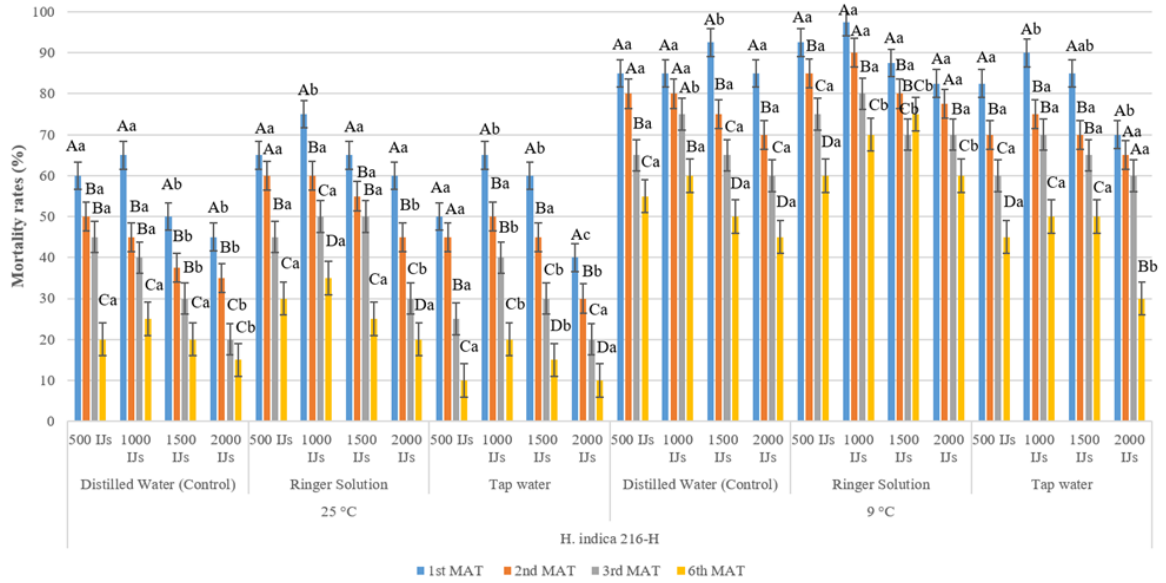


Figure 5. Pathogenicity of infective juveniles of *Heterorhabditis indica* 216-H on the *Galleria mellonella* larvae after different storage conditions and periods (Capital letters show statistically significant differences among IJs concentrations in the same storage media. Lower letters indicate statistically significant differences for the same IJs concentrations among different storage media).

Şekil 5. *Heterorhabditis indica* 216-H infeksiif juvenillerinin farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki patojenitesi (Büyük harfler, aynı depolama ortamındaki IJ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkları ifade etmektedir. Küçük harfler, aynı IJ konsantrasyonlarının farklı depolama ortamlarındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklarını ifade etmektedir).

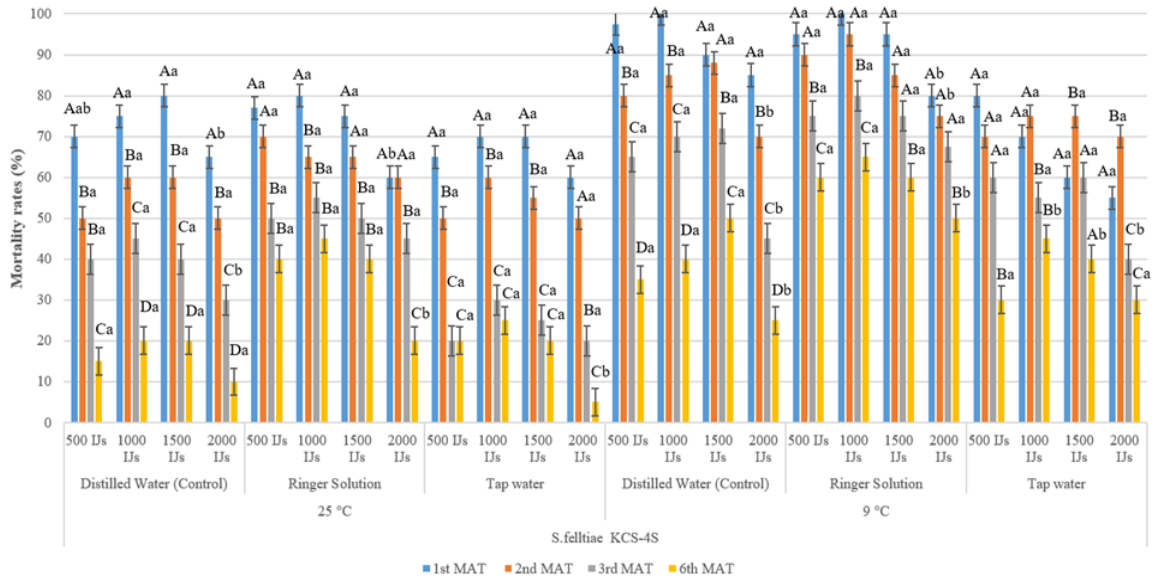


Figure 6. Pathogenicity of infective juveniles of *Steinernema feltiae* KCS-4S on the *Galleria mellonella* larvae after different storage conditions and periods (Capital letters show statistically significant differences among IJs concentrations in the same storage media. Lower letters indicate statistically significant differences for the same IJs concentrations among different storage media).

Şekil 6. *Steinernema feltiae* KCS-4S infeksiif juvenillerinin farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki patojenitesi (Büyük harfler, aynı depolama ortamındaki IJ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkları ifade etmektedir. Küçük harfler, aynı IJ konsantrasyonlarının farklı depolama ortamlarındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklarını ifade etmektedir).

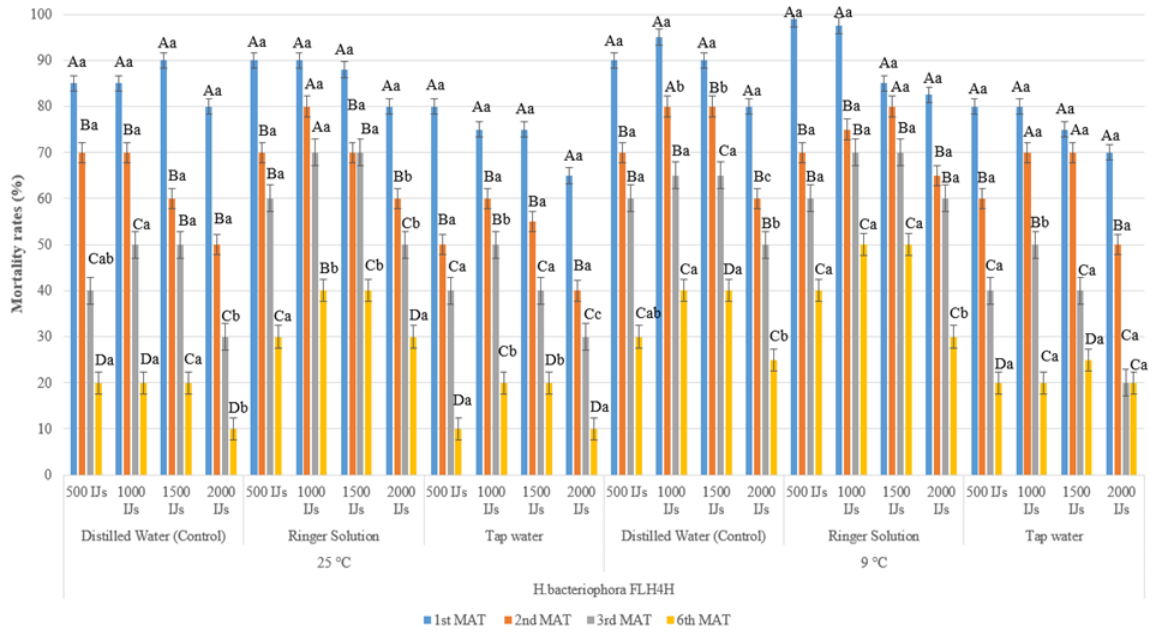


Figure 7. Pathogenicity of infective juveniles of *Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H on the *Galleria mellonella* larvae after different storage conditions and periods (Capital letters show statistically significant differences among IJs concentrations in the same storage media. Lower letters indicate statistically significant differences for the same IJs concentrations among different storage media).

Şekil 7. *Heterorhabditis bacteriophora* FLH-4H infektif juvenillerinin farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki patojenitesi (Büyük harfler, aynı depolama ortamındaki IJ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkları ifade etmektedir. Küçük harfler, aynı IJ konsantrasyonlarının farklı depolama ortamlarındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklarını ifade etmektedir).

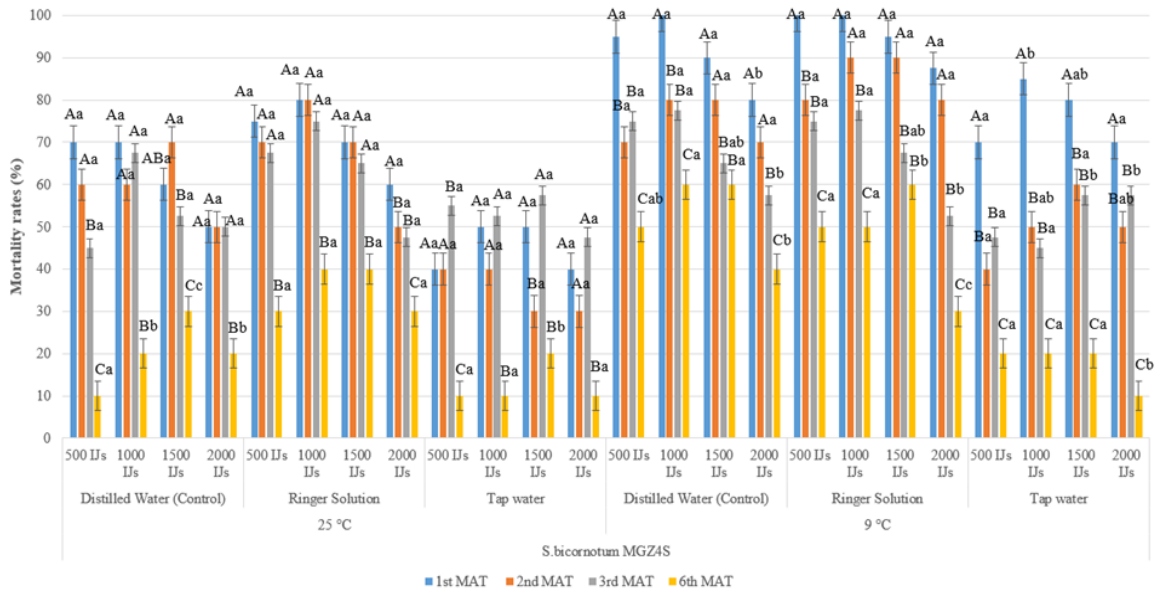


Figure 8. Pathogenicity of infective juveniles of *Steinernema bicornutum* MGZ-4S on the *Galleria mellonella* larvae after different storage conditions and periods (Capital letters show statistically significant differences among IJs concentrations in the same storage media. Lower letters indicate statistically significant differences for the same IJs concentrations among different storage media).

Şekil 8. *Steinernema bicornutum* MGZ-4S infektif juvenillerinin farklı saklama koşulları ve sürelerinden sonra *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki patojenitesi (Büyük harfler, aynı depolama ortamındaki IJ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkları ifade etmektedir. Küçük harfler, aynı IJ konsantrasyonlarının farklı depolama ortamlarındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklarını ifade etmektedir).

The correct storage of IJs, in a specific population, and at the ideal conditions, is one of the key requirements for success of EPNs. The results of this study showed the survival rate of IJs of the EPN species decreased drastically depending on the temperature and duration of storage. The highest survival of IJs was obtained from the 1-month storage duration and showed a gradual decrease with increasing storage durations. Similar findings have been reported in earlier studies. In a study conducted by Yadav (2016), the survival rates of IJs of *H. indica* and *S. thermophilum* showed a sharp decline after 4 months' storage at 25 °C and fell below 30%. However, in the same study, in contrast to these EPN species, the survival rate of IJs of *S. glaseri* was 70% at the same period which shows the difference in the adaptation capability of different EPN species in response to the same storage temperatures. Yadav (2016) also reported that the storage of the IJs of the same EPN species at a lower temperature (5 °C) led to a high decrease in the survival of IJs and *S. glaseri* was the only EPN species that survived after 4 months of storage at 5 °C. Similar to our findings, Sharmila and Subramanian (2016) reported 50 and 48% survival rates in the IJs of *H. indica* that were stored in deionized water for three months at 10 and 25 °C, respectively. However, in the current study, all tested EPN species survived for 6 months albeit with a notable decrease in survival rates of IJs. Temperature is one of the crucial factors affecting the mobility, survival and infectivity of EPN species (Glazer, 1996). The tolerance of IJs to different temperatures (heat or cold) varies greatly among EPN species and isolates (Grewal et al., 2006). In the present study, Steinernematid species showed higher survival than heterorhabditid species at 9°C which is in line with the results of Grewal (2000) and Singh et al. (2023) that reported the poor storage capability of Heterorhabditids compared to Steinernematid species. *Steinernema feltiae* is one of the species that is most commonly isolated from cold and continental climate conditions (Hazir et al., 2001; Canhilal et al., 2016; Yuksel and Canhilal, 2019). In contrast, *H. indica* and *H. bacteriophora* were generally found in tropical and subtropical climatic conditions (Bhat et al., 2020; Kour et al., 2022). EPN species that were isolated from different geographical locations may be more tolerant to survive at cool or high temperatures. In addition, EPN species have various kinds of behavioral and physiological adaptations to withstand unfavorable environmental conditions (Glazer, 1996). For instance, some EPN species such as *S. carpocapsae* was reported to be able to conserve energy during storage in water at 5°C by entering a quiescent phase in a "J" form which increases the survival chance of IJs (Grewal, 2000). The IJs of most EPN species become inactive at low temperatures to reduce metabolic costs as a survival mechanism (Griffin, 1993; Fitters and Griffin, 2004). However, there is a great variation in the metabolic responses of EPN species to different temperatures. Grewal (2000) showed that oxygen and lipid consumption of the IJs of different EPN species varied remarkably during storage in water at 25°C which also explains the differences in the survival and infectivity of IJs of different EPN species after long-term storage periods.

The IJs of EPNs naturally tend to search for a potential host in the soil environment and consume their stored energy reserves during host-seeking activity (Selvan et al., 1993; Hatab and Gaugler, 1999). After different storage periods, the lipid content of the IJs may also have affected the successful penetration of the host as suggested by Hass et al. (2002) and Andalo et al. (2011). The microbial or chemical composition of the storage medium is also an important factor that influences the survival of EPN species. In the present study, tap water generally led to the lowest survival of the IJs which is similar to the findings of Grewal (2000) who tested the longevity of IJs of *S. carpocapsae* in a water-dispersible granular formulation (WG) and tap water and stated that the survival of the IJs in WG was longer than the IJs in tap water. The chlorine content of tap water may be partly responsible for the lowest survival rates which could be lethal to IJs. In addition, tap water may contain contaminants and many infectious microorganisms such as bacteria and protozoans which decreases oxygen diffusion and releases toxic metabolites (Caylak and Tokar, 2012). This may also have affected the survival of IJs in longer storage periods. On the other hand, the results indicated that the Ringer solution generally provided better survival for the IJs which is in agreement with Bai et al. (2004) who reported an increase in the survival of the IJs of *S. carpocapsae* and *H. bacteriophora* in Ringer solution. Bai et al. (2004) also noted that, up to a point, increasing concentration of IJs resulted in higher nematode survival that is similar to our findings. In the present study, IJs survival generally was higher at 1000 and 1500 IJs concentrations except for some cases. This might be due to the cryoprotectants such as trehalose and glycerol produced by the IJs as suggested by Bai et al. (2004) (Qiu and Bedding, 2002).

However, at high IJs concentrations, survival of IJs decreased remarkably which might be due to the low oxygen level.

CONCLUSION

The storage conditions of EPNs play a crucial role in the survival and pathogenicity of EPNs. The results of this study revealed that the survival IJs of tested EPN species were adversely affected by storage duration, temperature, and media. The survival and infectivity of IJs were greater after 1 month of storage. The Ringer solution and low storage temperature (9 °C), in most cases, provided a better environment for the survival of IJs of tested EPN species. However, more studies are needed to uncover the real potential of EPNs in field conditions after different storage conditions and durations.

CONFLICT OF INTEREST

The authors no conflicts of interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

OA, EY, MÍ, RB, and RC designed the study, OA and EY participated in experiment, and all authors drafted the manuscript.

REFERENCES

- Andaló, V., Cavalcanti, R. S., Molina, J. P., & Moino Jr, A. (2010). Substrates for storing entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Scientia Agricola*, 67(3), 342-347. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300013>.
- Andalo, V., Moino, A., Maximiniano, C., Campos, V. P., & Mendonca, L. A. (2011). Influence of temperature and duration of storage on the lipid reserves of entomopathogenic nematodes. *Revista Colombiana de Entomología*, 37(2), 203-209.
- Ansari, M. A., Shah, F. A., Tirry, L., & Moens, M. (2006). Field trials against *Hoplia philanthus* (Coleoptera: Scarabaeidae) with a combination of an entomopathogenic nematode and the fungus *Metarhizium anisopliae* CLO 53. *Biological Control*, 39(3), 453-459. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.07.004>.
- Bai, C., Shapiro-Ilan, D. I., Gaugler, R., & Yi, S. (2004). Effect of entomopathogenic nematode concentration on survival during cryopreservation in liquid nitrogen. *Journal of nematology*, 36(3), 281.
- Bhat, A. H., Chaubey, A. K., & Askary, T. H. (2020). Global distribution of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-0212-y>
- Brown, I. M., & Gaugler, R. (1997). Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica*, 43(5), 363-375.
- Canhilal, R., Waeyenberge, L., Yüksel, E., Koca, A. S., Deniz, Y., & İmren, M. (2017). Assessment of the natural presence of entomopathogenic nematodes in Kayseri soils, Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 27(2).
- Canhilal, R., Waeyenberge, L., Toktay, H., Bozbuga, R., Çerintas, R., & İmren, M. (2016). Distribution of Steinernematids and Heterorhabditids (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in the Southern Anatolia Region of Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26(4).
- Caylak, E., & Tokar, M. (2012). Investigating chemical and microbiological contaminants in drinking water of Cankiri Province, Turkey. *Environmental Earth Sciences*, 67(7), 2015-2025. <http://dx.doi.org/10.1007/s12665-012-1641-z>
- Glazer, I. (1996). Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6(3), 373-378. <https://doi.org/10.1080/09583159631343>.
- Gülcü, B., & Hazir, S. (2012). An alternative storage method for entomopathogenic nematodes. *Turkish Journal of Zoology*, 36(4), 562-565. <https://doi.org/10.3906/zoo-1103-10>.
- Grewal, P. S. (2000). Anhydrobiotic potential and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology*, 30(9), 995-1000. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00080-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00080-1).
- Grewal, P. S., Bornstein-Forst, S., Burnell, A. M., Glazer, I., & Jagdale, G. B. (2006). Physiological, genetic, and molecular mechanisms of chemoreception, thermobiosis, and anhydrobiosis in entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 38(1), 54-65. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.09.004>.
- Griffin, C. T. (1993). Temperature responses of entomopathogenic nematodes: Implications for the success of biological control programmes. In R.A. Bedding, R.J. Akhurst & H.K. Kaya (Eds.), *Nematodes and the biological control of insect pests* (pp. 115-126). CSIRO Publications.
- Hass, B., Downes, M. J., & Griffin, C. T. (2002). Persistence of four *Heterorhabditis* spp. isolates in soil: role of lipid reserves. *Journal of Nematology*, 34(2), 151.

- Hatab, M. A. A., & Gaugler, R. (1999). Lipids of in vivo and in vitro cultured *Heterorhabditis bacteriophora*. *Biological Control*, 15(2), 113-118. <https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0701>.
- Hazir, S., Stock, S. P., Kaya, H. K., Koppenhöfer, A. M., & Keskin, N. (2001). Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 77(4):243-250. <https://doi.org/10.1006/jjpa.2001.5029>.
- Hazir, S., Kaya, H. K., Stock, S. P., & Keskin, N. (2003). Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turkish journal of Biology*, 27(4), 181-202.
- Fitters, P. F., & Griffin, C. T. (2004). Spontaneous and induced activity of *Heterorhabditis megidis* infective juveniles during storage. *Nematology*, 6(6), 911-917. <https://doi.org/10.1163/1568541044038597>.
- Kaya, H. K., & Stock, S. P. (1997). Techniques in insect nematology. In L. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology* (pp. 281-324). Academic Press.
- Kepenekci, I., Hazir, S., & Lewis, E. E. (2016). Evaluation of entomopathogenic nematodes and the supernatants of the in vitro culture medium of their mutualistic bacteria for the control of the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *Pest management science*, 72(2), 327-334. <https://doi.org/10.1002/ps.3998>.
- Kour, S., Khurma, U., Brodie, G., & Singh, S. (2022). Modeling the potential global distribution of suitable habitat for the biological control agent *Heterorhabditis indica*. *Ecology and Evolution*, 12(6), e8997. <https://doi.org/10.1002/ece3.8997>.
- Metwally, H. M., Hafez, G. A., Hussein, M. A., Hussein, M. A., Salem, H. A., & Saleh, M. M. E. (2012). Low cost artificial diet for rearing the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) as a host for entomopathogenic nematodes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 22(1), 15.
- Mokrini, F., Laasli, S. E., Benseddik, Y., Joutei, A. B., Blenzar, A., Lakhali, H., Sbaghi, M., İmren, M., Özer, G., Paulitz, T., Lahlai, R., & Dababat, A. A. (2020). Potential of Moroccan entomopathogenic nematodes for the control of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). *Scientific reports*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76170-7>.
- Odendaal, D., Addison, M. F., & Malan, A. P. (2016). Entomopathogenic nematodes for the control of the codling moth (*Cydia pomonella* L.) in field and laboratory trials. *Journal of Helminthology*, 90(5), 615-623. <https://doi.org/10.1017/s0022149x15000887>.
- Prabhuraj, A., Viraktamath, C. A., & Kumar, A. R. V. (2000). Modified trapping technique for the isolation of insect parasitic nematodes. *Journal of Biological Control*, 14(2) 83-85. <https://doi.org/10.18311/jbc/2000/4169>.
- Selvan, S., Gaugler, R., & Lewis, E. E. (1993). Biochemical energy reserves of entomopathogenic nematodes. *The Journal of parasitology*, 79(2)167-172. <https://doi.org/10.2307/3283503>.
- Singh, M., Rani, P., Prashad, H., & Nalini, C. (2023). Effect of storage media and temperature on viability and pathogenicity of North Indian populations of entomopathogenic nematodes. *Journal of Entomological Research*, 47(1), 209-214. <https://doi.org/10.1007%2Fs12639-014-0639-8>.
- Sharmila, R., & Subramanian, S. (2016). Effect of low temperature on the activity of entomopathogenic nematodes. *International Journal of Forestry and Crop Improvement*, 7(1), 19-23. <https://doi.org/10.15740/HAS/IJFCI/7.1/00-00>.
- Susurluk, I. A., Kumral, N. A., Peters, A., Bilgili, U., & Açıkgöz, E. (2009). Pathogenicity, reproduction and foraging behaviours of some entomopathogenic nematodes on a new turf pest, *Dorcadion pseudopreissi* (Coleoptera: Cerambycidae). *Biocontrol Science and Technology*, 19(6), 585-594. <http://dx.doi.org/10.1080/09583150902957348>.
- Qiu, L. & Bedding, R. (2000). Energy metabolism and its relation to survival and infectivity of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* under aerobic conditions. *Nematology* 2, 551-559. <http://dx.doi.org/10.1163/156854100509330>.
- Qiu, L., & Bedding, R. A. (2002). Characteristics of protectant synthesis of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* and importance of glycerol as a protectant for survival of the nematodes during osmotic dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131(4), 757-765. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(02\)00019-2](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(02)00019-2).
- Yadav, A. K. (2016). Effects of storage temperature on survival and infectivity of three indigenous entomopathogenic nematodes strains (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Meghalaya, India. *Journal of Parasitic Diseases*, (40), 1150-1154. <https://doi.org/10.1007%2Fs12639-014-0639-8>.
- Yuksel, E., & Canhilal, R. (2019). Isolation, identification, and pathogenicity of entomopathogenic nematodes occurring in Cappadocia Region, Central Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1), 1-7. <http://dx.doi.org/10.1186/s41938-019-0141-9>.



Determining of Some Engineering Properties for Harvest and Post Harvest Applications of Two Common Cultivated Hazelnuts Cultivars in Türkiye

Türkiye’de Yaygın Olarak Yetiştirilen İki Fındık Çeşidinin Hasat ve Hasat Sonrası Uygulamalar İçin Mühendislik Özelliklerinin Belirlenmesi

Hamide ERSOY¹  Ebubekir ALTUNTAŞ² 

Received: 01.02.2023

Accepted: 22.04.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: In this study, some engineering characteristics (physical properties, colour characteristics, coefficients of static friction and mechanical behaviours) of the shelled and kernel of Çakıldak and Foşa hazelnut cultivars cultivated in Türkiye were investigated for harvest and post harvest applications. The moisture contents of Çakıldak and Foşa cultivars for shelled hazelnut 8.69-7.56% (% wet basis) and kernel hazelnut 5.37- 4.64% (% wet basis), respectively. Statistically significant ($p<0.01$) differences were observed in fruit mass, hundred fruit mass, fruit volume, bulk density and true density of hazelnut cultivars in shelled and kernel cultivars. Çakıldak cultivar showed the highest L^* value in shelled fruits and the Foşa cultivar in kernel fruit hazelnut. The highest coefficient of static friction values showed on the rubber surface among the two cultivars for both shelled and kernel. As a result of the mechanical tests, a statistically significant difference was observed in both cultivars at the different loading speeds and axes for rupture force values. Knowing the engineering characteristics (physical properties, colour characteristics, coefficients of static friction and mechanical behaviours) of hazelnut cultivars is thought to be an important data source and contributes to the cleaning, transportation, packaging, storage, processing, classification and engineering studies be developed for harvesting and threshing and post-harvest applications.

Keywords: Hazelnut cultivars, physical and colour characteristics, coefficient of static friction, mechanical behaviours.

&

Öz: Bu çalışmada, Çakıldak ve Foşa fındık çeşitlerinin hasat ve hasat sonrası uygulamalar için kabuklu ve iç meyvelerinin bazı mühendislik özellikleri (fiziksel özellikler, renk özellikleri, statik sürtünme katsayıları ve mekanik davranışlar) incelenmiştir. Çakıldak ve Foşa çeşidi kabuklu fındık meyveleri için nem içerikleri sırasıyla %8.69-7.56 (% yaş bazda) ve iç fındık için %5.37-4.64 (% yaş bazda) olarak belirlenmiştir. Kabuklu ve iç fındık meyvelerinde kütle, yüz meyve kütlesi, meyve hacmi, yığın yoğunluğu ve meyve hacim ağırlığı çeşitler için istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) farklılıklar göstermiştir. Çakıldak çeşidi kabuklu meyvelerde en yüksek L^* değerini, iç fındıkta ise Foşa çeşidi göstermiştir. Hem kabuklu hem de iç fındık için çeşitler arasında en yüksek statik sürtünme katsayısı değerleri kauçuk yüzeyde görülmüştür. Mekanik testler sonucunda her iki çeşitte farklı yükleme hızlarında ve eksenlerde kopma kuvveti değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmiştir. Fındık çeşitlerinin mühendislik özelliklerinin (fiziksel özellikleri, renk özellikleri, statik sürtünme katsayıları ve mekanik davranışları) bilinmesinin önemli bir veri kaynağı olacağı ve ekim, hasat ve harmanlama ve hasat sonrası mekanizasyon için temizleme, taşıma, paketlenme, depolama, işleme, sınıflandırma gibi mühendislik çalışmalarının geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fındık çeşitleri, fiziksel ve renk özellikleri, statik sürtünme katsayısı, mekanik davranışlar.

Cite as: Ersoy H. & Altuntaş E. (2023). Determining of Some Engineering Properties for Harvest and Post Harvest Applications of Two Common Cultivated Hazelnuts Cultivars in Türkiye. International Journal of Agriculture and Wildlife Science, 9 (2), 186-195. doi: 10.24180/ijaws.1245722

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Hamide Ersoy, Tokat Gaziosmanpaşa University, Department of Biosystems engineering, hamide.ersoy7421@gop.edu.tr (Corresponding author)

² Prof. Dr. Ebubekir Altuntaş, Tokat Gaziosmanpaşa University, Department of Biosystems engineering, ebubekir.altuntas@gop.edu.tr

INTRODUCTION

Hazelnut is the most widely cultivated hard-shelled fruit in the world after almonds. The cultivated cultivars of hazelnut are grown in Turkey, Italy, Spain, the USA, Chile, China, Iran, France, Azerbaijan, Russia and Georgia (TEPGE, 2021). In our country, the cultivation of hazelnut was first started in the Eastern Black Sea Region and spread to the Western Black Sea Region and then to other regions with the guarantee of the purchase of hazelnuts by the state. Provinces, where hazelnut production is common in Turkey, are Ordu, Samsun, Giresun, Sakarya, Düzce and Trabzon. In Turkey, 80-85% of hazelnuts produced are exported and 15-20% of them are consumed in the domestic market (TMO, 2019).

According to the data of FAO (2019), world hazelnut production is 1.125 thousand tons in a 1 million ha area. Important hazelnut-producing countries in the world are Turkey, Italy, USA, Azerbaijan, Georgia, France, Iran, China and Chile. Turkey ranks first in hazelnut production and export in the world. According to TUIK data, hazelnut production in Turkey has changed between 665 and 775 thousand tons in the last five years. According to the data for 2021, the amount of hazelnut production in Turkey was 684 thousand tons (TUIK, 2021).

Hazelnut yields in Trabzon, Giresun and Ordu provinces are lower than in Zonguldak, Sakarya and Düzce provinces. An increase is observed in the planting areas in this region due to the higher farm sizes and yields of the producers in Kocaeli, Sakarya and Düzce provinces.

The low level of productivity in Turkey, which is the world's largest hazelnut producer, also negatively affects profitability. To obtain more and quality products from the unit area, competitive and sustainable hazelnut farming, where productivity is prioritized, should be implemented. To increase the yield and quality of hazelnut, it is necessary to develop and expand good agricultural practices.

Hazelnut consumption in Turkey is mostly made for a snack, and the consumption of hazelnut oil, hazelnut chocolate, ground hazelnut and other products remains below the desired level. Internal consumption cannot be increased to the required extent. To increase the consumption of hazelnut and its products, consumer-oriented production models should be applied. The biggest problem in the hazelnut production region is the lack of storage infrastructure. In this context, all institutions and organizations should be encouraged to activate licensed storage. Quality is very important in the marketing of a product. In this context, all manufacturers, large and small, throughout Turkey should be encouraged to make quality production (TMO, 2020).

Obtaining information about both the construction materials and the properties of the stored product is considered important in the design of storage structures for hazelnuts. Mechanical properties such as friction depend on the surface structure of the hazelnut and the arrangement of the grains. Deformation of the hazelnut also makes it increasingly important for estimating loads on storage structures for crops (Molenda et al., 2004).

Hazelnut fruit is not only consumed as a nut but also widely used in pastry, halvah, dessert and especially in the chocolate industry. Hazelnut is a rich source of folic acid, vitamins E, K and C, and minerals such as iron, zinc, copper, protein and fibre. It contains unsaturated fatty acids, then, it is also a therapeutic food in terms of heart health (Gündüz et al., 2018).

Knowledge of the engineering characteristics (geometric and volumetric properties, colour properties, static friction coefficient and mechanical behaviors) of the hazelnut cultivars is necessary to design hazelnut processing equipment. They are important for the adoption and design of several packaging, handling, transportation and storage systems. The functioning of many machines used for post-harvest application and the food industry is influenced by the size, shape and sphericity the most important properties. The volume and density of the fruits play an important role in post-harvest technological processes and the evaluation of product quality. Most of the damage occurs in the post harvest application as well as mechanical conveying and other equipment in the mechanical processing of agricultural materials especially fruits.

It is important to determine hazelnut fruit quality in terms of dimensions, colour and mechanical damage. Knowledge of engineering characteristics is crucial as they are necessary to determine and guarantee the quality of the product.

In this study, some engineering characteristics (physical properties, colour characteristics, static friction coefficient and mechanical behaviours) of Çakıldak and Foşa hazelnut cultivars were determined in terms of designing, developing, and projecting the necessary equipment harvesting, and post-harvest applications.

Many researchers have conducted studies on the physical properties, colour change and mechanical properties of hazelnuts (Aydın, 2002; Güner et al., 2003; Özdemir and Akıncı, 2004; Altuntas and Özkan, 2008; Delprete and Sesana, 2014; Çetin et al., 2020).

MATERIAL AND METHOD

In this study, Çakıldak and Foşa hazelnut fruits were harvested from a farmer's garden in Samsun in the 2021 season. Çakıldak cultivar, on the other hand, has been used because it is a cultivar that is produced quite a lot in Turkey and has a high yield. Engineering characteristics of hazelnut vary according to the cultivar. Foşa hazelnut is one of the first cultivars that comes to mind when it comes to hazelnut cultivars, as well as a large and flamboyant cultivar in Türkiye. While the bark of the Foşa cultivar is darker, on the contrary, the bark of the Çakıldak cultivar is lighter. Hazelnut fruits were brought to Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Agriculture, Biosystem Engineering Department as soon as possible. Some engineering characteristics (geometric and volumetric properties, colour properties, static friction coefficient and mechanical behaviors) were determined in the Biological Material Laboratory. Damaged and broken fruits were excluded from the experiments. Foşa and Çakıldak hazelnut samples used in this experiment for shelled and kernel are presented in Figures 1 and 2, respectively.



Figure 1. Samples of the shelled and kernel of the Foşa hazelnut cultivar.
Şekil 1. Foşa fındık çeşidinin kabuklu ve iç örnekleri.



Figure 2. Samples of the shelled and kernel of Çakıldak hazelnut cultivar.
Şekil 2. Çakıldak fındık çeşidinin kabuklu ve iç örnekleri.

To determine some geometric and volumetric characteristics of shelled and kernel hazelnut fruits, 100 fruits were used. The size dimensions of hazelnut samples were determined with a digital caliper (with an

accuracy 0.01 mm) (Figure 3). For geometric mean diameter, sphericity and surface area were used 100 hazelnut samples and they were determined from Equations 1, 2, and 3, respectively (Mohsenin, 1980).

$$G_d = (L_g \times W_t \times T_c)^{1/3} \quad (1)$$

$$S_h = [(G_d/L_g)] \times 100 \quad (2)$$

$$S_f = \pi \times (G_d)^2 \quad (3)$$

Here;

L_g : length,

W_t : width,

T_c : thickness

G_d : geometric mean diameter,

S_h : sphericity,

S_f : surface area

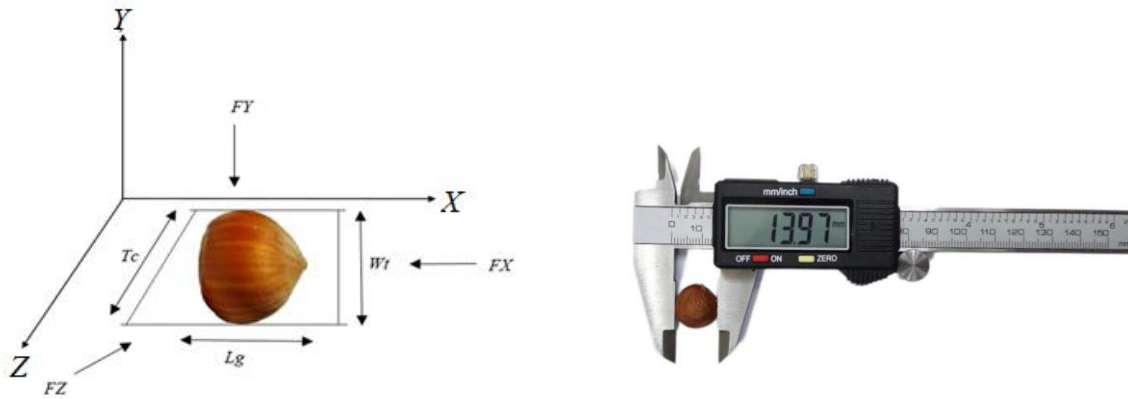


Figure 3. Representation of the axial dimensions (F_X , F_Y , F_Z) forces and measurement of size dimensions of kernel hazelnuts sample.

Şekil 3. Eksenel boyutlarının (F_X , F_Y , F_Z) kuvvetlerinin görünümü ve iç fındık örneğinin boyut boyutlarının ölçümü.

Fruit masses (M_f) were measured with a digital electronic balance (with an accuracy of 0.001 g). For the measurement of hundred fruit masses (H_{mf}), the average of 100 fruit masses was taken in 4 replicates. The liquid displacement method was used to determine the fruit density (F_d , (kg m^{-3}) for the shelled and kernel hazelnut fruits. Pure water was used as a fluid (Saçılık et al., 2003). The hectoliter method was used for the bulk density (B_d) (kg m^{-3}). The porosity value (P_r) was used as a ratio of bulk density and fruit density. The following equation was used for fruit volume (F_v) (Mohsenin, 1980).

$$F_v = \frac{\pi}{6} \times (L_g \times W_t \times T_c) \quad (4)$$

A colorimeter device was used to determine the colour characteristics of shelled and kernel hazelnut cultivars. For colour characteristics, L^* , a^* , b^* , hue angle and chroma were determined. Hue angle and chroma were determined by the equations below (McGuire, 1992).

$$C_r = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5} \quad (5)$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \times \frac{b^*}{a^*} \quad (6)$$

In the measurement of coefficients of friction for hazelnut cultivars, PVC, laminate, galvanized sheet, rubber and plywood surfaces were used with a friction measurement device (Yılmaz and Altuntas, 2020). For the measurement friction of the coefficient, the inclination angle was taken into account as $\tan\alpha$ basis at the time the fruits start to move from friction surfaces.

In compression tests against the mechanical force for the behaviour of hazelnut cultivars for shelled and kernel, a Biological Material Test Device (Sundoo HP-500) was used. This device has a dynamometer, a stand, a motorized motion unit and a computer-connected. In the tests, the force and time curves were also taken graphically, and the force (R_f) and deformation values (D_f) of the fruits were determined. In the compression test, three different loading speeds (30 mm min⁻¹, 60 mm min⁻¹, 90 mm min⁻¹) used were used. The absorbed energy, hardness and power required for rupturing were determined with the following equations (Mohsenin, 1980).

$$Ea = \frac{R_f \times D_f}{2} \quad (7)$$

$$H_s = \frac{R_f}{D_f} \quad (8)$$

$$P_{rr} = \frac{A_e \times H_s}{60000 \times D_f} \quad (9)$$

Here;

A_e : Absorbed energy (N mm),

R_f : Rupture force (N),

D_f : Deformation (mm),

H_s : Hardness (N mm⁻¹),

P_{rr} : Power required for rupturing (W),

Lsp : Loading speed (mm min⁻¹).

SPSS 17 (Statistical Package for Social Sciences) program was used for the statistical evaluations of the research results. It was determined that the normality tests performed before the analysis of the variance of the data were suitable for statistical analysis. By using a one-way analysis of variance in the study, the effect of cultivars on the parameters examined with Duncan's multiple comparison tests was determined. An analysis of variance was performed for deformation, hardness and rupture force and power parameters are taken into account with loading speed and axes.

RESULTS AND DISCUSSION

The moisture contents of Çakıldak and Foşa hazelnut cultivars were determined as 8.69 and 7.56% wet basis for shelled fruits and 5.37 - 4.64% w.b, respectively. The results of the engineering characteristics (geometric, volumetric, colour, static friction properties and mechanical behaviour) of hazelnut cultivars were examined for both shelled and kernel fruits, respectively.

Geometric Characteristics

The geometric characteristics of hazelnut fruit are given in Table 1. The highest surface area was determined as 980.09 mm² in the shelled Foşa cultivar and the lowest as 557.54 mm² in the kernel Çakıldak cultivar. The highest values in terms of size were obtained in the shelled and kernel Foşa cultivars. While the length and width of the shelled fruits showed very important statistical differences for both cultivars, they were determined to be nonsignificant in the kernel fruits. In terms of geometric mean diameters, it was observed that while it was important in shelled for two cultivars, it was insignificant in barkless.

Karaosmanoğlu and Üstün (2007) reported that the width value of the kernel fruit was found to be the highest value at 14.78 mm in Düzce Foşa and the lowest at 12.16 mm in the Samsun Çakıldak fruits ($p < 0.05$), among the cultivars, respectively. Özdemir and Akıncı (2004) reported that the fruit length, width and thickness values for the Çakıldak cultivar as 18.55 mm, 16.80 mm and 15.67 mm, respectively. When compared with the studies, it was observed that similar and close values were obtained in this study. Selvi et al. (2020) reported that the sphericity, geometric mean diameter and surface area mean values found as 0.91, 16.76 mm and 883.92 mm² in the shell, and 0.89, 13.0 mm and 533.03 mm² in the kernels for Çakıldak hazelnut cultivar, respectively. When compared with the studies, it was observed that similar and close values were obtained in this study.

Table 1. Geometric characteristics of hazelnut cultivars.

Çizelge 1. Fındık çeşitlerinin geometrik özellikleri.

Cultivars	L_g (mm)	W_t (mm)	T_c (mm)	G_d (mm)	Sh (%)	S_f (mm ²)	
Shelled	Çakıldak	19.71±0.19**	16.97±0.43**	15.46±0.41 ^{ns}	17.23±0.28**	87.54±1.44 ^{ns}	934.95±29.50*
	Foşa	20.29±0.41**	17.65±0.38**	15.53±0.31 ^{ns}	17.66±0.30**	87.05±0.66 ^{ns}	980.09±34.25*
	F value	16.73	13.98	0.18	11.03	0.97	9.97
Kernel	Çakıldak	15.59±0.50 ^{ns}	13.01±0.64 ^{ns}	11.68±0.70b*	13.29±0.57 ^{ns}	85.11±2.12 ^{ns}	557.54±47.13 ^{ns}
	Foşa	15.92±4.36 ^{ns}	13.40±0.35 ^{ns}	12.24±0.38a*	13.74±0.35 ^{ns}	86.14±0.70 ^{ns}	594.01±29.43 ^{ns}
	F value	2.82	2.81	5.02	4.35	2.11	4.31

L_g : Length (mm), W_t : Width (mm), T_c : Thickness (mm), G_d : Geometric mean diameter (mm), Sh : Sphericity (%), S_f : Surface area (mm²), ±: standard deviation, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$; ^{ns}: nonsignificant

Mass and Volumetric Characteristics

The mass and volumetric characteristics of hazelnut fruit are given in Table 2. The highest value in terms of fruit mass was observed in the Foşa cultivar with 2.27 g for shelled and 1.23 kernel fruit, respectively. The lowest porosity value were found as 55.49% and 49.34% for shelled and kernel fruits in the Çakıldak cultivar, respectively. In this study, while the fruit mass, hundred masses, fruit volume, bulk and fruit densities showed significant differences, the porosity was found to be nonsignificant.

Table 2. Mass and volumetric characteristics of hazelnut cultivars.

Çizelge 2. Fındık çeşitlerinin kütle ve hacimsel özellikleri.

Cultivars	M_f (g)	H_{mf} (g)	F_v (mm ³)	B_d (kg m ⁻³)	F_d (kg m ⁻³)	Pr (%)	
Shelled	Çakıldak	2.02±0.12b*	197.67±3.92b**	391,18±19.94b**	358.55±11.69b**	808.72±59.4b**	55.49±3.38 ^{ns}
	Foşa	2.27±0.25a*	219.05±6.19a**	274,90±21.06c**	393.06±2.85a**	966.76±62.06a**	59.21±2.55 ^{ns}
	F value	8.29	34.02	100.42	41.14	16.92	3.88
Kernel	Çakıldak	1.11±0.88b**	111.43±2.09b**	1255.71±156.35b*	436.65±7.32a**	865.57±60.51 ^{ns}	49.34±3.90 ^{ns}
	Foşa	1.23±0.70a**	122.76±2.11a**	1379.95±100.11a*	409.98±8.48b**	865.22±37.65 ^{ns}	52.55±2.19 ^{ns}
	F value	13.10	58.17	4.48	28.33	0	2.57

M_f : Fruit mass (g), H_{mf} : Hundred mass (g), F_v : Fruit volume (mm³), B_d : Bulk density (kg m⁻³), F_d : Fruit density (kg m⁻³), Pr : Porosity (%), ±: standard deviation, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$; ^{ns}: nonsignificant

Karaosmanoğlu and Üstün (2007) reported that the highest kernel fruit mass is 1.37 g in the Düzce Foşa cultivar, while Ercisli et al. (2011), found that the fruit mass of the Foşa cultivar is 2.37 g shelled and 1.28 g kernel hazelnut, respectively.

Özdemir and Akıncı (2004) found that the mass of the shelled hazelnut was 1.599 g and the kernel mass was 0.924 g, respectively. Kibar and Öztürk (2009) found that the lowest values for bulk and fruit densities were 417.43 kg m⁻³ and 788.00 kg m⁻³ in Çakıldak cultivars, respectively.

Colour Characteristics

The colour characteristics of the hazelnut cultivar are given in Table 3. The highest L^* colour characteristic value was observed in the barkless Foşa cultivar with 37.02. Considering the results of variance analysis, it was found to be statistically insignificant in terms of colour characteristics in shelled hazelnut cultivars.

Table 3. Colour characteristics of hazelnut cultivars.

Çizelge 3. Fındık çeşitlerinin renk özellikleri.

	Cultivars	L^*	a^*	b^*	C_r	h°
Shelled	Çakıldak	29.20±5.25 ^{ns}	11.21±4.08 ^{ns}	9.53±3.59 ^{ns}	14.74±5.36 ^{ns}	40.04±3.98 ^{ns}
	Foşa	25.32±3.15 ^{ns}	12.18±2.60 ^{ns}	8.59±1.34 ^{ns}	14.93±2.78 ^{ns}	40.98±2.40 ^{ns}
	<i>F value</i>	4.00	0.40	0.61	0.01	0.41
Kernel	Çakıldak	32.63±2.22 ^{b*}	8.97±1.27 ^{ns}	7.01±1.19 [*]	11.41±1.62 [*]	37.97±3.18 ^{b*}
	Foşa	37.02±4.36 ^{a*}	10.24±2.11 ^{ns}	9.15±2.34 [*]	13.74±3.10 [*]	41.44±2.44 ^{a*}
	<i>F value</i>	8.07	2.63	6.64	4.46	7.53

±: standard deviation, **: $p<0.01$, *: $p<0.05$; ^{ns}: nonsignificant

Çetin et al. (2020) determined the L^* brightness value to be 42.14 in shelled hazelnut, 39.10 in kernel hazelnut in the Çakıldak cultivar, and 40.82 in shelled hazelnut, and 41.87 in kernel hazelnut in the Foşa cultivar. In another study, Ercisli et al. (2011) examined L^* , a^* and b^* values of 23.70, 12.01, 18.18 for the Foşa cultivar in shelled hazelnut and 28.61, 12.16, 22.21 in kernel hazelnut, respectively.

Coefficient of the Friction

The coefficients of friction values were examined on five different surfaces (PVC, galvanized sheet, laminate, plywood, rubber) for Çakıldak and Foşa hazelnut cultivars. The highest values in shelled and kernel hazelnuts were obtained on the rubber surface. According to the results of variance analysis, significant differences were observed on the laminated surface of shelled hazelnuts. In contrast, significant differences were observed in PVC and galvanized surfaces in kernel hazelnuts (Table 4).

Table 4. The coefficient of friction on different surfaces in hazelnut cultivars.

Çizelge 4. Fındık çeşitlerinde farklı yüzeylerdeki sürtünme katsayısı.

	Cultivars	PVC	Galvanized steel	Laminate	Plywood	Rubber
Shelled	Çakıldak	0.286±0.0133 ^{ns}	0.301±0.015 ^{ns}	0.208±0.015 ^{a*}	0.290±0.016 ^{ns}	0.368±0.017 ^{ns}
	Foşa	0.267±0.0132 ^{ns}	0.275±0.021 ^{ns}	0.175±0.018 ^{b*}	0.298±0.010 ^{ns}	0.348±0.016 ^{ns}
	<i>F value</i>	5.00	4.89	9.43	0.80	3.58
Kernel	Çakıldak	0.271±0.016 ^{b**}	0.232±0.026 ^{b**}	0.238±0.016 ^{ns}	0.309±0.016 ^{ns}	0.459±0.028 ^{ns}
	Foşa	0.313±0.011 ^{a**}	0.317±0.011 ^{a**}	0.238±0.010 ^{ns}	0.317±0.011 ^{ns}	0.445±0.000 ^{ns}
	<i>F value</i>	24.39	43.99	0.00	0.80	1.35

±: standard deviation, **: $p<0.01$, *: $p<0.05$; ^{ns}: nonsignificant, PVC: Polivinil Klorür

Özdemir and Akıncı (2004) reported that the coefficient of friction was 0.265 on the plywood surface in the shell, and 0.221 on the galvanized steel. Statistically, the plywood in the shell showed significant differences, while the coefficient of friction was insignificant on the galvanized surface of the Çakıldak cultivar.

Mechanical Properties

Different loading speeds of hazelnut cultivars and the rupture force, deformation, absorbed energy, hardness and rupture power values in the loading axes are given in Table 5 for the shelled and kernel hazelnuts, respectively.

Table 5. Changes in mechanical behaviours according to loading speeds and axes of shelled and kernel hazelnuts for two cultivars.

Çizelge 5. İki çeşit kabuklu ve iç fındıkların yüklenme hızları ve eksenlerine göre mekanik davranışlarının değişimi.

Cultivars	Lps	L _{ax}	R _f (N)	D _f (mm)	A _e (N mm)	H _s (N mm ⁻¹)	P _{rr} (W)	
Shelled	Çakıldak	30	X-	160.68±14.07 ^{ns}	3.68±0.72 ^{ns}	291.88±39.32 ^{ns}	45.75±13.55 ^{ns}	0.040±0.0035 ^{ns}
			Y-	179.22±14.18 ^{ns}	4.01±0.32 ^{ns}	359.36±43.04 ^{ns}	44.93±84.69 ^{ns}	0.045±0.0035 ^{ns}
			Z-	163.28±6.64 ^{ns}	4.32±0.68 ^{ns}	353.16±57.72 ^{ns}	38.66±7.19 ^{ns}	0.041±0.0017 ^{ns}
			F value	3.41	1.45	3.10	0.88	3.41
	Çakıldak	60	X-	133.14±16.48b ^{**}	4.74±1.02 ^{ns}	312.74±68.08b ^{**}	29.41±8.04ab [*]	0.067±0.008b ^{**}
			Y-	187.50±10.46a ^{**}	5.12±0.62 ^{ns}	478.08±38.63a ^{**}	37.19±6.11a [*]	0.094±0.005a ^{**}
			Z-	132.32±15.85b ^{**}	5.44±0.76 ^{ns}	359.39±58.25b ^{**}	24.72±4.79b [*]	0.066±0.007b ^{**}
			F value	23.72	0.93	11.45	4.77	23.72
	Foşa	90	X-	167.58±8.34a ^{**}	6.70±0.68a ^{**}	561.74±69.41a ^{**}	25.21±2.77 ^{ns}	0.125±0.006a ^{**}
			Y-	174.24±15.26a ^{**}	6.18±0.25a ^{**}	538.51±50.58a ^{**}	28.23±2.79 ^{ns}	0.131±0.011a ^{**}
			Z-	138.00±13.52b ^{**}	5.13±0.41b ^{**}	353.50±40.37b ^{**}	27.08±3.88 ^{ns}	0.104±0.010b ^{**}
			F value	11.50	13.72	21.69	1.14	11.50
Kernel	Çakıldak	30	X-	167.20±28.26b [*]	3.21±0.92 ^{ns}	264.99±76.86 ^{ns}	55.98±20.11 ^{ns}	0.041±0.007b [*]
			Y-	206.72±16.73a [*]	4.03±1.27 ^{ns}	421.64±152.29 ^{ns}	55.19±15.94 ^{ns}	0.050±0.004a [*]
			Z-	197.26±20.36ab [*]	4.20±0.80 ^{ns}	409.83±62.65 ^{ns}	49.04±14.25 ^{ns}	0.049±0.005ab [*]
			F value	4.28	1.37	3.46	0.25	4.28
	Foşa	60	X-	140.58±21.63b [*]	4.06±0.71 ^{ns}	283.78±52.22 ^{ns}	35.56±8.71b [*]	0.07±0.011b ^{**}
			Y-	271.26±79.59a [*]	4.56±1.43 ^{ns}	647.64±388.87 ^{ns}	61.91±17.71a [*]	0.14±0.039a ^{**}
			Z-	214.86±24.92a [*]	5.15±1.16 ^{ns}	546.89±108.90 ^{ns}	44.58±17.48ab [*]	0.11±0.012a ^{**}
			F value	1.03	2.73	2.78	1.61	157.91
	Foşa	90	X-	205.26±26.96b ^{**}	5.90±1.28 ^{ns}	609.01±162.57 ^{ns}	35.81±7.24 ^{ns}	0.15±0.020a ^{**}
			Y-	174.00±30.55b ^{**}	6.02±1.47 ^{ns}	516.92±137.55 ^{ns}	31.48±15.13 ^{ns}	0.13±0.023a ^{**}
			Z-	256.56±34.45a ^{**}	5.90±1.95 ^{ns}	762.06±279.73 ^{ns}	46.21±11.93 ^{ns}	0.19±0.026b ^{**}
			F value	0.51	8.11	3.26	4.28	33.00
Kernel	Çakıldak	30	X-	77.16±15.02 ^{ns}	3.61±0.26c ^{**}	137.97±17.72b ^{**}	21.66±5.70a [*]	0.019±0.0038c ^{**}
			Y-	71.98±7.32 ^{ns}	7.05±0.52a ^{**}	254.50±39.39a ^{**}	10.22±0.88b [*]	0.036±0.0037b ^{**}
			Z-	83.60±9.93 ^{ns}	5.44±1.21b ^{**}	226.17±50.33a ^{**}	16.11±4.86ab [*]	0.063±0.0075a ^{**}
			F value	1.34	24.44	12.60	8.63	86.59
	Çakıldak	60	X-	60.48±3.44 ^{ns}	3.97±0.88 ^{ns}	120.26±29.52 ^{ns}	15.97±4.29 ^{ns}	0.015±0.0001c ^{**}
			Y-	56.22±8.29 ^{ns}	4.14±0.39 ^{ns}	116.37±21.02 ^{ns}	13.68±2.59 ^{ns}	0.028±0.0041b ^{**}
			Z-	60.46±2.64 ^{ns}	5.10±1.07 ^{ns}	154.25±32.09 ^{ns}	12.29±2.64 ^{ns}	0.045±0.0020a ^{**}
			F value	1.03	2.73	2.78	1.61	157.91
	Foşa	90	X-	84.18±5.84 ^{ns}	4.09±1.31b ^{**}	171.72±56.83 ^{ns}	23.25±11.01a [*]	0.021±0.0015c ^{**}
			Y-	79.26±10.13 ^{ns}	5.59±0.88ab ^{**}	218.56±17.55 ^{ns}	14.63±3.69ab [*]	0.039±0.0051b ^{**}
			Z-	77.34±15.05 ^{ns}	7.07±1.28a ^{**}	278.44±98.21 ^{ns}	11.02±1.87b [*]	0.058±0.0113a ^{**}
			F value	0.51	8.11	3.26	4.28	33.00
Foşa	30	X-	76.76±9.26 ^{ns}	3.21±0.19b ^{**}	123.67±19.26b ^{**}	23.89±2.48ab ^{**}	0.019±0.002c ^{**}	
		Y-	97.16±14.10 ^{ns}	3.19±0.57b ^{**}	152.56±18.15b ^{**}	31.64±8.66a ^{**}	0.049±0.007b ^{**}	
		Z-	81.48±13.04 ^{ns}	5.59±1.43a ^{**}	223.30±47.80a ^{**}	15.80±4.780b ^{**}	0.061±0.009a ^{**}	
		F value	3.76	11.88	13.21	7.60	46.07	
Foşa	60	X-	94.94±14.25 ^{ns}	4.63±0.99 ^{ns}	216.51±40.56 ^{ns}	21.74±7.53 ^{ns}	0.024±0.036c ^{**}	
		Y-	80.34±8.81 ^{ns}	4.83±0.85 ^{ns}	196.56±56.13 ^{ns}	16.82±1.91 ^{ns}	0.060±0.0066a ^{**}	
		Z-	85.38±13.70 ^{ns}	5.16±1.15 ^{ns}	217.14±38.22 ^{ns}	17.30±4.59 ^{ns}	0.043±0.0068b ^{**}	
		F value	1.76	0.36	0.33	1.36	48.43	
Foşa	90	X-	112.62±15.85a [*]	3.13±0.67 ^{ns}	173.56±27.30 ^{ns}	37.98±13.02 ^{ns}	0.028±0.004c ^{**}	
		Y-	98.32±16.47ab [*]	4.55±1.83 ^{ns}	216.91±72.46 ^{ns}	25.61±12.81 ^{ns}	0.074±0.012a ^{**}	
		Z-	88.48±6.88b [*]	3.38±0.39 ^{ns}	149.92±23.23 ^{ns}	26.41±3.64 ^{ns}	0.044±0.003b ^{**}	
		F value	3.88	2.20	2.65	2.07	44.50	

±: standard deviation, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$; ns: nonsignificant, Lps: Loading speed (mm min⁻¹), L_{ax}: Loadin axes R_f: Rupture force (N), D_f: Deformation (mm), A_e: Absorbed energy (N mm), H_s: Hardness (N mm⁻¹), P_{rr}: Power required for rupturing (W).

The highest force value for shelled hazelnut was 187.50 N in the Y axis at 60 mm min⁻¹ speed in the Çakıldak cultivar and 271.26 N in the 60 mm min⁻¹ Y axis in the Foşa cultivar. Regarding hardness, the highest value for the Foşa cultivar was 30 mm min⁻¹ in shelled and kernel hazelnut fruits. The power required for rupture showed statistically significant differences in the two cultivars at different speeds (except for Çakıldak-shelled, 30 mm min⁻¹), in the shelled and kernel hazelnuts, respectively. While significant differences were observed in the hardness values at 60 mm min⁻¹ for Çakıldak and Foşa in shelled they were nonsignificant at the same speed for kernel hazelnut fruits.

Ercisli et al. (2011) found hardness values were 313.67 N mm⁻¹ and 245.44 N mm⁻¹ in the shelled hazelnuts and 85.22 N mm⁻¹ and 30.22 N mm⁻¹ in the kernel fruits for the Foşa cultivar. Güner et al. (2003) found the force values for rupturing to be 393.86 N and 71.02 N in the shelled and kernel fruits, and the deformation values to be 6.44 mm and 3.75 mm in the shelled and kernel fruits in Çakıldak cultivar, respectively.

CONCLUSION

Knowing the engineering characteristics (physical, mechanical, colour and coefficient of friction properties) of hazelnut, which has such an important place in Turkey, is important for the transportation, cleaning, sorting, classification, processing and storage processes and designs of these shelled and kernel fruits. Some engineering characteristics of Çakıldak and Foşa cultivars determined in this study are as follows:

- The coefficient of friction values were found to be the highest on the rubber surface and the lowest on the laminate surface in the shelled and kernel fruits of hazelnut cultivars statistically.
- The bulk and fruit densities for the shelled and kernel fruits of the hazelnut were 358.55 and 808.72 kg m⁻³ and 436.65 and 865.57 kg m⁻³, respectively, while the bulk and fruit densities were found as 393.06 and 966.76 kg m⁻³ and 409.98 and 865.22 kg m⁻³ for the Foşa cultivar.
- As a result of the mechanical tests, Foşa was the cultivar that had the highest force in shelled and kernel hazelnut fruits.
- The power required for rupture in the kernel fruit of the hazelnut was found to be important at all loading speeds and axes.
- While the geometric mean diameter values showed statistically significant differences of 17.23 and 17.66 mm for kernel fruits for Çakıldak and Foşa cultivars, respectively.
- The differences between the engineering characteristics of hazelnut cultivars should be considered in hazelnut harvest and post-harvest mechanization and food enterprises.
- The differences between the rupture forces of hazelnut cultivars are considered important in the design of special machines for harvest and post-harvest technologies.

CONFLICT OF INTEREST

The authors report under this title that there are no conflicts of interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

The authors report under this title that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

- Altuntas, E. & Özkan, Y. (2008). Physical and mechanical properties of some walnut (*Juglans regia* L.). *International Journal of Food Engineering*, 4(4), 1556–3758. <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1349>.
- Aydın, C. (2002). Physical properties of hazel nuts. *Biosystems Engineering*, 82(3), 297–303. doi:10.1006/bioe.2002.0065.
- Çetin, N., Yaman, M., Karaman, K. & Demir, B. (2020). Determination of some physicochemical and biochemical parameters of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(5), 439–450. <http://dx.doi.org/10.3906/tar-1905-115>.
- Delprete, C. & Sesana, R. (2014). Mechanical characterization of kernel and shell of hazelnuts: Proposal of an experimental procedure. *Journal of Food Engineering*, 128, p.174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.09.027>
- Ercisli, S., Ozturk, I., Kara, M., Kalkan, F., Seker, H., Duyar, O. & Erturk, Y. (2011). Physical properties of hazelnuts. *International Agrophysics*, 25(2), 115–121.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019). FaoStat. <http://www.fao.org/faostat/en/#veri/QC>. (Access Date: 25.12.2022).
- Gündüz, R., Toprak, C., Yazar, Ö. V., Küçükkavruk, K. & Aksakal, E. (2018). Hazelnut Industry Research Report. Competition Authority III. Department of Inspection and Implementation. <https://www.rekabet.gov.tr/Dosya/sector-raporlari/findik-sektor-raporu1-20180606113339725.pdf>.
- Güner, M., Dursun, E. & Dursun, I. G. (2003). Mechanical behaviour of hazelnut under compression loading. *Biosystems Engineering*, 85, 485–491. [http://dx.doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00089-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00089-8).
- Karaosmanoğlu, H. & Üstün, N.Ş. (2017). Some Physical Properties of Organic and Conventional Hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Academic Food Journal*, 15(4), 377–38. <http://dx.doi.org/10.24323/akademik-gida.370107>.
- Kibar, H. & Öztürk, T. (2009). The effect of moisture content on the physico-mechanical properties of some hazelnut varieties. *Journal of Stored Products Research*, 45(1), 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.06.005>.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective colmeasurements. *Hortscience*, 27, 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>.

- Mohsenin, N. N. (1980). Physical properties of plants and animal materials. *Gordon and Breach Science publishers, NW, New York*. <https://doi.org/10.1016/0021-8634%2868%2990151-0>.
- Molenda, M., Horabik, J., Thompson, S. A. & Rossi, J. (2004). Effects of grain properties on loads in model silo. *International Agrophys*, 18, 329–332.
- Özdemir, F., & Akıncı, I. (2004). Physical and nutritional properties of four major commercial Turkish hazelnut varieties. *Journal of Food Engineering*, 63(3), 341–347. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2003.08.006>.
- Saçılık, K., Öztürk, R. & Keskin, R. (2003). Some physical properties of hemp seed. *Biosystems Engineering*, 86(2), 191–98. [http://dx.doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00130-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00130-2).
- Selvi, K. C., Yesiloğlu, E., & Sauk, H. (2020). Engineering properties of two hazelnuts varieties and its kernel relation to harvest and threshing. *Italian Journal of Food Science*, 32(3). <https://doi.org/10.14674/IJFS-1666>.
- TEPGE, Agricultural Economic and Policy Development Institute (2021). [https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Findik Üretim Raporu 2021](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Findik%20Üretim%20Raporu%202021). (Access Date:26.12.2022).
- TMO, Turkish Grain Board (2019). <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/findik2019>. (Access Date: 25.12.2022).
- TMO, Turkish Grain Board (2020). <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/findik2020>. (Access Date: 25.12.2022).
- TUIK, Turkish Statistical Institute (2021). TUIK – Data Portal (tuik.gov.tr). (Access Date: 25.12.2022).
- Yılmaz G. & Altuntas E. (2020). Some Bio-Technical Properties of Flax Seeds, Fennel Seeds and Harnal Seed Capsules. *Turkish Journal of Agricultural Engineering Research*, 1(2), 222–232. <https://doi.org/10.46592/turkager.2020.v01i02.001>.



RT-PCR Analysis of Caucasian and Muğla Honey Bees by SNP Markers of Chalkbrood Disease *

Kafkas ve Muğla Bal Arılarının Tebeşir Hastalığının SNP Belirteçleri ile RT-PCR Analizi*

Ahmet Okumuş¹ , Fatih Bilge² 

Received: 07.10.2022

Accepted: 11.04.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: Two different honey bee subspecies' genotypes obtained from Ordu, Apiculture Research Institute were analyzed by SNP markers using Real-Time PCR-HRM. Genomic DNA samples analysed with 10 SNP primers those were used for identification of chalkbrood disease resistance genes and two SNP primers those were obtained from honey bee genom sequencing. Result of SNP analyses, four primers (AMB-00858574, AMB-01151447, AMB00631190, AMB-00686140) amplified in Caucasian honey bee and six (AMB-00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00674355, AMB-00686140) primers amplified in Muğla honey bee. Four amplicons are similar for this subspecies. Result of electrophoresis analyses, five primers (AMB00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) form a band in Caucasian honey bee, seven amplicons (AMB-00858574, AMB00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00902548, AMB-00674355, AMB-00686140) form a band in Muğla honey bee and four amplicons (AMB00858574, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) similar for this subspecies. As a result of this study in Caucasian and Muğla honeybee for identification of disease resistance and evaluability as a identification key for this subspecies was emerged the capacity of association of single nucleotide polymorphisms to resistance to chalkbrood in two important honeybee genotypes in country of *Apis mellifera* using RT-PCR for HRM analysis.

Keywords: Honey Bee, SNP, Muğla bee, Caucasian bee, Real-Time PCR, HRM, chalkbrood disease

&

Öz: Ordu, Arıcılık Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan iki farklı bal arısı alt türüne ait genotipler Real-Time PCR-HRM kullanılarak SNP markörleri ile analiz edilmiştir. Kireç hastalığı direnç genlerinin tanımlanmasında kullanılan 10 SNP primeri ve bal arısı genom dizilemesinden elde edilen iki SNP primeri ile analiz edilen genomik DNA örneklerinde; Kafkas bal arısında amplifiye edilmiş dört primer (AMB-00858574, AMB-01151447, AMB 00631190, AMB-00686140) ve altı (AMB-00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00674355, AMB-00686140) Muğla bal arısında amplifiye edilmiştir. Bu alt tür için dört amplicon benzer olup elektroforez analizleri sonucunda, Kafkas bal arısında beş primer (AMB 00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140), yedi amplicon (AMB-00858574, AMB 00612262, AMB-01151447, AMB -00631190, AMB-00902548, AMB-00674355, AMB-00686140) Muğla bal arısında dört amplicon (AMB 00858574, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) bir bant oluşturmuştur. Bu çalışma sonucunda, Kafkas ve Muğla bal arısı genotiplerinde hastalık direncinin belirlenmesi ve bu alt tür için bir tanımlama anahtarı olarak değerlendirilebileceği, HRM analizi için RT-PCR kullanılarak *Apis mellifera*'nın önemli iki bal arısı genotipinde tek nükleotid polimorfizmlerinin kireç direnci ile ilişkilendirme kapasitesi ortaya çıkarılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, Muğla arısı, Kafkas arısı, SNP, RT-PCR, HRM, kireç hastalığı

Cite as: Okumuş A. & Bilge F. (2023). RT-PCR Analysis of Caucasian and Muğla Honey Bees by SNP Markers of Chalkbrood Disease. International Journal of Agriculture and Wildlife Science. 9 (2), 196-204. doi: 10.24180/ijaws.1185587

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Prof. Dr. Ahmet OKUMUŞ, Adnan Menderes University, Agricultural Biotechnology Department, e-mail: drzirmuh@gmail.com(Corresponding author)

² Fatih BİLGE, Ondokuz Mayıs University, Agriculture Biotechnology Department, e-mail : fatihbilge@omu.edu.tr

* This study was produced by MSc Thesis

INTRODUCTION

The honey bee (*Apis mellifera*) is of great economic, agricultural and environmental importance. For this reason, honey bee breeding has spread all over the world, but the natural habitat of *Apis mellifera* is thought to be Europe, North Africa and the Middle East, and phylogenetic analyzes have shown that the origin of *Apis mellifera* is Asia (Han et al., 2012). The honey bee is one of the most important pollinator insect species the world needs. However, unlike other pollinator species, the honey bee has become a part of human life and has become the focus of people's attention. Although the complex social structures of honey bees are of some interest to humans, honey bees are not the only insect that humans have either cultivated or created a social structure. Honey bees arouse people's curiosity. In the civilizations of South East Asia, creation was associated with the honey bee, and the honey bee was frequently mentioned in many Ancient civilizations. The medieval church accepted the honey bee as a symbol of purity. In the Middle Ages, the Holy Roman Emperor Charlemagne established a tax system on honey (Johnson, 2011). Honey bee is seen as a valuable biological material by breeders due to its economic value (Tunca, 2009). The turning point for studies on the honey bee was the sequencing of the genome of *Apis mellifera*. High A+T content, high C+G content, low number of immune-determining genes, absence of transposons, and slow evolutionary rate are the unique features of the honeybee genome. The similarity of daily biological rhythms, RNA interactions and DNA methylation genes with vertebrates makes the honey bee a promising model organism for important biological activities (Gupta, 2012).

Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) is the replacement of a single nucleotide in the DNA sequence with one of two different nucleotides. SNPs are generally bi-allelic in practice. This can be explained by the low frequency of single nucleotide polymorphisms occurring at the origin of SNPs. Moreover, the probability of independent nucleotide exchange occurring at the same point is very low. Polymorphism (replacement, deletion, or insertion) of differences at a single nucleotide position occurs. Another reason is due to an effect that occurs in mutations. This effect causes the emergence of two types of SNPs. Mutations can occur as a transition or a transversion; transition is the replacement of purine with purine or pyrimidine with pyrimidine, while transversion is the replacement of purine with pyrimidine or vice versa. SNPs have an advantage over other types of polymorphism in the genetic study of complex traits and diseases. SNPs are also very effective in population gene identification studies. The high frequency of SNPs on the genome gives them a clear advantage in the discovery of trait or disease genes. That is, SNPs can be used in deep gene mapping in gene cloning efforts, or more importantly, as candidate polymorphisms that have been tested as functional or normal mutations for trait or disease. SNPs can be found in any region of the genome, such as exons, introns, intra-gene regions, and promoter regions. SNPs are associated with alleles associated with traits and diseases rather than with alleles associated with yield, function, and physiology. A SNP protein in the coding region can affect gene expression, an SNP in the promoter region, and an SNP in the intron region can affect splice splicing. Due to their simple structure such as base exchange, microarray and other technology techniques can be developed to provide rapid and efficient genotyping of hundreds of individuals using SNP markers. SNPs mutate less than other polymorphisms (Iglesias and Grzelczak, 2020; Komar, 2009). SNPs have been used to scan genetic diversity and resistance to pathogens in many organisms (Kongchum et al., 2010; Donalds et al., 2017; Elberts et al., 2018; Kosch et al., 2019). Schork et al., (2000), emphasizing the utility of SNPs for genetic epidemiology studies offering an overview of genetic polymorphism and discuss the historical use of polymorphism in the identification of disease-predisposing genes via meiotic mapping, reported that genotyping of hundreds can be done using SNP markers.

Han et al. (2012) investigated the origin of the honey bee with approximately 1000 SNP markers. They used 2 methods to construct the phylogenetic tree: allele affinity and Fst matrix. As a result of their studies, they found that their data was not sufficient to determine the origin of the honey bee. Allelic affinity indicates that the honey bee is of African origin, but the Fst matrix does not. Their analysis showed that the bees in Western and Eastern European regions came from different origins. Chapman et al. (2015) conducted a study of 95 SNP markers to quantify the African honey bee genome that originated in Africa. As a result of their study, they reported that these 95 SNP markers are effectively useful in African honey bee origin

studies. Holloway et al. (2011) investigated the genes that provide resistance to lime disease in honey bees. In their study, they suggested that resistance to lime disease in offspring is almost determined by genes and environmental influence is minimal. They argued that since lime disease has been seen in honey bees for a short period of time, approximately 100 years, very few genes are effective in endurance and chalkbrood infection caused by the fungus *Ascosphaera apis* currently has a significant impact on Australia's apicultural industry (Gerdtts et al., 2021). They also reported that SNP markers have important roles in the detection of genes that provide resistance to lime disease. Pinto et al. (2014), in their research; implied that *Apis mellifera mellifera*, named Dark European Honey Bee is increasingly threatened in its native range has led to the establishment of conservation programmes and protected areas throughout western Europe. They applied 1183 SNP markers to assess genetic diversity and introgression levels in several protected populations of *A. m. mellifera* comparing with samples collected from unprotected populations. SNPs showed different levels of introgression, such as 0% in Norway and 14% in Denmark. Introgression is higher in unprotected breeds (30%) than in preserved breeds (8%). As a result of their studies, they reported that despite controlled breeding studies, some populations still need to be adjusted in the management of breeding studies to clear foreign genes that can be detected by SNPs. Wallberg et al. (2014) investigated 8.3 million SNP regions obtained as a result of sequencing 140 genomes from 14 honey bee populations worldwide. As a result of their studies, they provided information about the genetic evolution and local adaptations of honey bees. They reported that population sizes fluctuate to reflect historical climate waves. In their study, they reported that modern breeds have high genetic diversity and this shows that honey bees do not form bottle noses during cultivation. They reported that the levels of genetic variation are highly shaped by natural selection. They identified genomic traces of local adaptation. They reported that these traces are rich in immune system genes.

Shi et al. (2013), in their study on *A. cerana cerana*, created the first linkage map 17 for *A. cerana cerana* using 1535 SNP markers. In their study, they found 19 linkage groups from 16 chromosomes by comparing the markers with the genome of *A. mellifera*. They reported that the final map obtained contains 16 anchor points with 1535 markers. Chavez-Galarza et al. (2013) investigated the traces of selection to represent both the natural distribution of *Apis mellifera iberiensis* and a wide variety of climates ranging from the semi-arid in south-eastern to oceanic in north-western Iberia by performing genome scanning analysis using SNP markers in their study. They stated that 15 of the 34 results they obtained in total were strongly related to one or more environmental conditions. Henriques et al. (2013) investigated the amount of crossing between Italian and carniolan bees with European black honey bees in their study. In their study, they compared the microsatellite and SNP markers and tried to understand which marker best describes the hybridization level. They stated that the microsatellite data set they used and 2 of the 3 SNP data sets they used in their studies with different data sets on samples from different European countries gave similar results, but the data of 1 SNP data set were different. Shi et al. (2013) performed the first genetic mapping of *Apis cerana cerana*. F₂ worker bees (N=13) were genotyped for 126990 single nucleotide polymorphism. After eliminating the low-quality ones and those who did not pass the Mendelian test, 3000 SNPs were obtained and 1535 of them were used in the creation of the linkage map. They reported that the final map contains 16 link groups containing 1535 markers. The total genetic distance was determined as 3,942.7 cM. They measured the mean marker spacing as 2.6 cM among the 16 linkage groups. They reported that since the map in question is based on SNP markers, easier and faster genotyping methods would be possible compared to the RAPD and microsatellite-based maps used in *A. mellifera*. The study was performed to establish the capacity of association of single nucleotide polymorphisms to resistance to chalkbrood in two important honeybee breeds of *Apis mellifera* using RT-PCR for HRM analysis.

MATERIAL AND METHOD

Material

The honeybee samples were enabled from 30 colonies by the experts of Ordu Honeybee Institute which collected from Artvin territory as Caucasian honeybee subspecies and Mugla territory as Mugla ecotype of Anatolia subspecies. The samples were preserved carefully in well-labelled specimen bottles containing

70% alcohol. These samples were transported to the biotechnology laboratory of Ondokuz Mayıs University, Agricultural Faculty, Laboratory of Agricultural Biotechnology Department, Samsun in Türkiye.

Methods

Chemicals used DNA master mixes used in the study; Biotium (California, USA), primer sets Centromere DNA Technologies and chemicals required for all other solutions were obtained from Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Germany). Genomic DNA isolation was performed according to the CTAB (hexadecyltrimethyl ammonium bromide) isolation method according to Seçgin (2015). Real-Time PCR components used in molecular studies Fast EvaGreen qPCR mastermix was used as master mix Primers: Twelve synthetic oligonucleotide primer pairs were used in SNP analyses. The names and base sequence (5'-3') of the primers used are given in Table 1. In this study, Holloway et al. (2012) investigated the relationship between the resistance to lime disease in honey bees and SNPs, ten SNP regions they found polymorphic and two of the SNP regions on the genome sequence reported in 2011 as a result of the Honey Bee Genome Project conducted by the Human Genome Sequencing Center were used.

Table 1. Used SNP primers used in this study.

Çizelge 1. Bu çalışmada kullanılan SNP primerleri.

No	Primer	Primer Sequence (5'-3')	GC Oranı
1	rs21784922F	AGCCATTCTATTTCCGGATCCCGG	52
	rs21784922R	AACTGGGTATTCTCATTCCCCTTA	40
2	rs21784921F	CTAAGTAAACTGGGGAAAAGATTAG	36
	rs21784921R	GATTAGAATTATTCAGCCAATTCT	28
3	AMB-00858574F	TCATTGTTCCACCGATCGAGCAT	50
	AMB-00858574R	CGCTGTTGGCATTGACACTTTC	50
4	AMB-00612262F	GAGAGCGCGAAATCACCGATGAAA	50
	AMB-00612262R	TGGTACAAAACCTGTTGCTCCATCT	45,8
5	AMB-01118908F	TGTCCTTCGGATTATCGGGCGAA	50
	AMB-01118908R	CAGATTGCACTGCCAAGCCTTCAA	50,24
6	AMB-01151447F	TGAACCTCAAAGACTACCACGCCA	50
	AMB-01151447R	ATGATTCGCCTTGAACCTGCGACC	50
7	AMB-00902552F	GTTGGTAACGCAAGCTAAATCTACG	47
	AMB-00902552R	TGCGCCAGAATGGTAAACGGATTG	50
8	AMB-00631190F	AACCAGCGTTAAGGGAGGAACAGT	50
	AMB-00631190R	TGTTCCGGTGGTGAACGAGTGGTA	50
9	AMB-00902548F	ACAAGTTGTGTGTAACCGGTGGTTG	50
	AMB-00902548R	TCCATTATTGCGACTGCGCAGGAT	50
10	AMB-00674355F	AAGAAAGATCGACGCACGATTGGC	50
	AMB-00674355R	ATTGAATCGCGCGCGGAAAGAGAT	50
11	AMB-00640650F	CCGCGGATTCTTGATAGAGATAACCGAA	48,1
	AMB-00640650R	GTTGAGGAAGATGGAGATGTTGAGG	48
12	AMB-00686140F	TCGGTTAATTTACGAACGAAATACATG	35,7
	AMB-00686140R	GCGATAACGTCCGAAATCGCAAATCC	48

The Real-Time PCR and HRM protocol applied in the study are given below. Amplification of the prepared samples was carried out in Biorad brand "Real-Time PCR thermal cycler" device. Step Temperature Time in PCR Cycle ; It was as follows 11 min of initial denaturation at 95 °C, followed by 40 cycles; each consisting of a denaturation segment 15 s at 94 °C, an annealing segment of 15 s at 57 °C, an extension segment of 20 s 72 °C and the final elongation was applied at 72 °C for 2 minutes. In the Melting (HRM) Analysis, the results were obtained with 65 °C > 95 °C and + 0.2 °C / s increments.

RESULTS AND DISCUSSION

Comparison of Caucasian bee and Mugla bee using SNP markers was analysed in terms of melting temperature value by RT-PCR. Real-Time PCR and HRM analyses, bee genotypes obtained from ORDU, Apiculture Research Institute were subjected to Real-Time PCR and HRM processes using twelve SNP primers. As a result of Real-Time PCR analysis, six primers did not amplify in either genotypes which performed four primary amplifications in the Caucasian bee genotype and six in the Mugla bee genotype. As a result of the HRM analysis, the temperature of the environment in which the samples were located was increased from 65 °C to 95 °C, with an increase of 0.2 °C per second. Amplicons deteriorated at different temperatures according to their A-T and G-C contents. As a result of this deterioration, the fluorescent dye contained in the amplicons was released and the machine detected the melting temperature of 29 °C when this dye irradiated.

Analysis results are shown in Table 2. The band size of 300 bp at primer 4 (Halloway et al., 2013) is displayed in Figure 1. The band size was similar to primer 9 and primer 10, but the results were not equal to the RT-PCR findings. In Figure 2 and Figure 3, the peaks formed as a result of the HRM analysis of the samples are seen. In the study, two honey bee breeds (Caucasian bee and Muğla bee) were analyzed using Real-Time PCR with twelve SNP primers that were previously evaluated for disease resistance in different breeds. This analysis was evaluated by the presence of both point mutations and electrophoretic bands.

Table 2. HRM value of amplified primers by RT-PCR analysis.

Çizelge 2. RT-PCR analizi ile çoğaltılan primerlere ait HRM değerleri.

No	Amplificated Primers	Peak Value	Caucasian Honeybee	Mugla Honeybee
			Melting Temperature °C	Peak Value
1	AMB-00858574	1892,97	79,20	2048,56
2	AMB-00612262			1436,55
3	AMB-01151447	592,37	75,00	653,74
4	AMB-00631190	463,03	73,80	478,87
5	AMB-00674355			1046,80
6	AMB-00686140	783,86	71,20	514,82

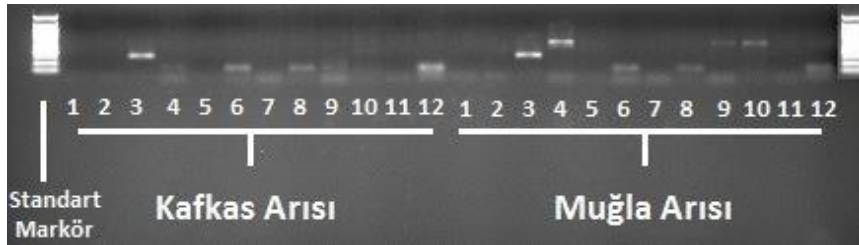


Figure 1. The band sizes of Mugla and Caucasian honeybees runned by twelve SNP primers

Şekil 1. Oniki SNP markörü ile test edilen Muğla ve Kafkas arısında band büyüklükleri

As a result of Real-Time PCR-HRM analysis, four (AMB-00858574, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) genotypes in Caucasian bees and six (AMB-00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00674355, AMB-00686140) generated the primary amplicon. Six of the twelve primers (rs21784922, rs21784921, AMB-01118908, AMB-00902552, AMB-0064 0650, AMB-00902548) did not generate amplicons in either genotype. The peaks formed by the amplicons formed by four primers (AMB-00858574, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) in Caucasian and Mugla bees were similar, while two amplicons (AMB-00612262, AMB-00674355) were seen only in Mugla bees. This result is also supported by the electrophoresis analysis. In the analysis, twelve PCR products of both genotypes were carried out in 2% gel electrophoresis and results close to Real-Time PCR-HRM analysis were obtained. As a result of the analysis, five amplicons (AMB-00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) formed bands in the Caucasian bee genotype. Seven amplicons (AMB-00858574, AMB-00612262, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00902548, AMB-00674355, AMB-00686140) formed bands

in Mugla bee genotype. Four of these bands (AMB-00858574, AMB-01151447, AMB-00631190, AMB-00686140) are similar to the Caucasian bee genotype. The three bands (AMB-00612262, AMB-00902548, AMB-00674355) are different. According to the results of HRM performed with AMB-00612262 primer, its absence in Caucasian bees makes Mugla bee advantageous in terms of carrying the chalkbrood disease gene. Aronstein et al (2015) revealed a codominant relationship in the RFLP analysis of bands that appeared with the same primer. Accordingly, while only a single 300 bp RR-dominant genotype was seen in the DNA fragment cut with the EcorV restriction enzyme, the SS and RS genotypes gave 300 bp, 213 bp and 87 bp bands, respectively. Mugla bee genotype strengthens that it carries genes in dominant structure with a single band, and the absence of codominant melting structure also supports this.

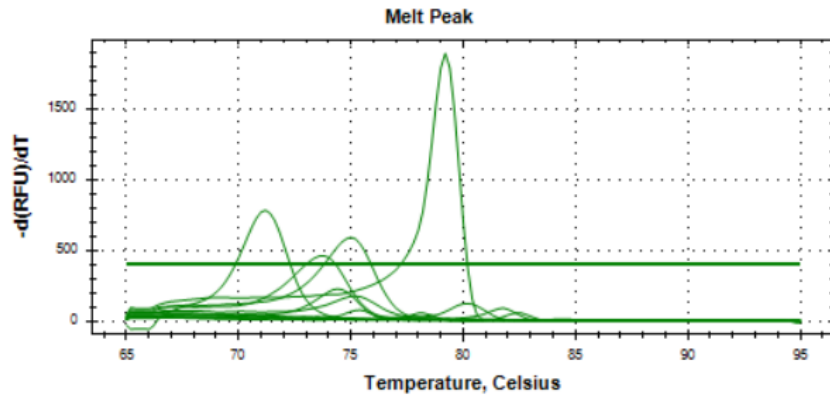


Figure 2a. HRM analysis of Caucasian Bee genotype by RT-PCR
Şekil 2a. RT-PCR ile Kafkas arı genotiplerinin HRM analizi

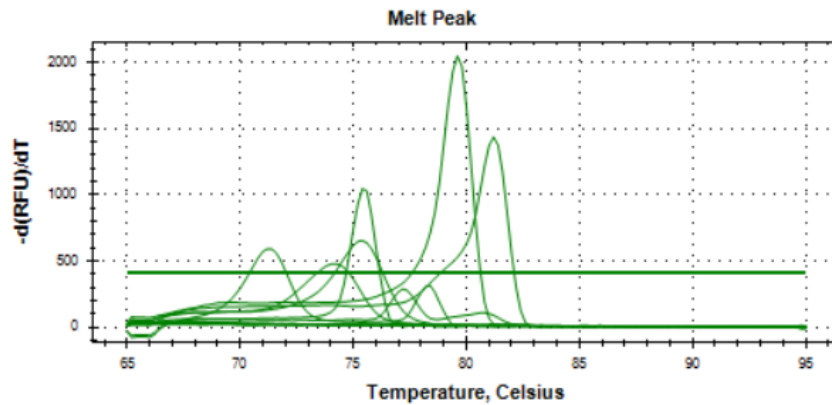


Figure 2b. HRM analysis of Mugla Bee Genotype by RT-PCR
Şekil 2b. RT-PCR ile Muğla arı genotipinin HRM analizi

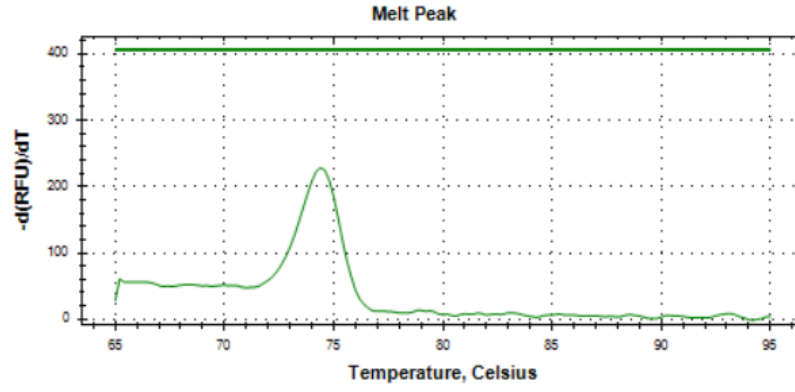


Figure 3a. HRM analysis for AMB-00612262 primers for Caucasian Bee Genotype.
Şekil 3a. Kafkas arı genotipinin AMB-00612262 primerine ait HRM analizi

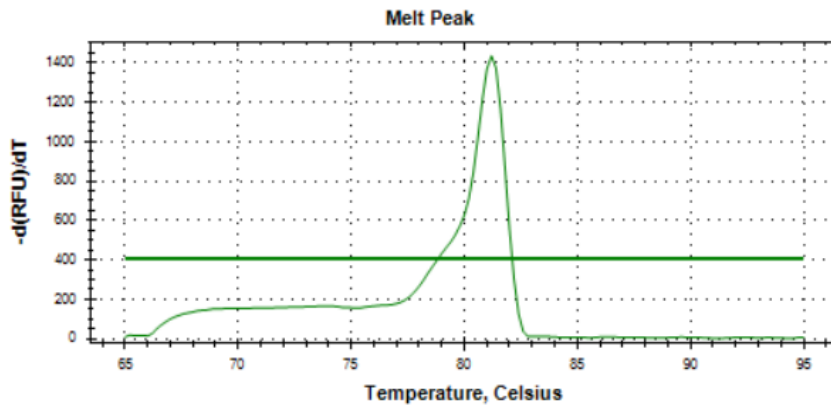


Figure 3b. HRM analysis for AMB-00612262 primers for Mugla bee genotype.
Figure 3b. Muğla arı genotipine ait AMB-00612262 primerine ait HRM analizi

In the study, no point mutations that would create an allele were found with the HRM analysis using the SNP marker. Holloway et al. (2012) investigated the relationship of SNP markers with genes providing resistance to lime disease in their study on various commercial bee populations, and as a result of their study, they found that ten SNPs were associated with these 40 genes and were informative about these genes. In this study; Five of the ten SNP sites were detected in Caucasian bees and seven in Mugla bees. Possibly occurring differences can be considered as deletion or deletion unless proven otherwise.

Chalkbrood disease in honey bee which is created by fungal patogene *Ascosphaera apis* is an economically damaging larval disease. Although SNP have been used to scan genetic diversity, resistance to pathogens in many organisms there is no enough study on honey bee (Kongchum et al., 2010; Donalds et al., 2017; Elberts et al., 2018; Kosch et al., 2019). For genotyping immune genes in honeybee, Henriques et al., (2021) developed 91 quality-proved functional SNPs working 89 innate immune genes using the high-sample-throughput IPLEX MassARRAY system but there was no chalkbrood disease genes.

Schork et al. (2000), as a result of their studies, reported that genotyping of hundreds of individuals can be done using SNP markers. It has been revealed that the SNP markers used in the study are an effective tool in the molecular identification of honey bee breeds. Han (2012) identified 15 honey bee breeds with SNP markers which used 1136 SNP markers in his study and reported that 1029 of these markers showed variation among all races and 40% of SNPs were polymorphic in each race. Pinto et al. (2014) investigated the variation in conserved European populations of *Apis mellifera mellifera* using 1183 SNP markers in their study. As a result of their study, they reported that the variation in protected populations was lower than that in unconserved populations. As a result of this study, it was revealed that three of the twelve primers

used (AMB-00612262, AMB-00902548, AMB-00674355) differ between races. With Real-Time PCR-HRM analysis, without the need for electrophoresis, molecular identification could be made with the help of graphics formed as a result of the analysis. In the light of these results, it was revealed that Real-Time PCR-HRM analysis should be studied in more detail in point mutations in such studies. With this type of differentiation technique, it can be suggested not only to distinguish between races, but also to understand how genetic contamination is from different races in the genetic structure of a population belonging to any honey bee race. Henriques et al. (2013) investigated the amount of crossing between *Apis mellifera luigustica* and *Apis mellifera carnica* honey bee breeds with *Apis mellifera mellifera* honey bee breed.

CONCLUSION

As a result of this study, it was suggested that SNP markers are the ideal marker method for similar studies. These markers can be used for a difference or similarity in the genotype but their effect may not always manifest itself in the phenotype. However, molecular discrimination is absolutely necessary for the complete differentiation of two different populations or races. High Resolution Melting (HRM) analysis has been used as an accurate tool in disease diagnostics, species identification and SNP genotyping. It may be necessary to increase the number of character-specific SNP markers by sequencing for HRM analysis. In order to develop an effective identification analysis. By increasing the number of SNP markers, race-specific marker sets can be created to make this differentiation much more effective. SNP markers are also used as efficient markers in studies investigating the origin of *Apis mellifera*. Chapman et al. (2015) conducted a study of 95 SNP markers to quantify the African honey bee genome that originated in Africa. As a result of their studies, they reported that these 95 SNP markers can be used effectively in African honey bee origin studies. In this study, the association of single nucleotide polymorphisms to resistance to chalkbrood disease using RT-PCR for HRM analysis was conducted as two important honeybee breeds that are Caucasian and Mugla bees. The results of SNP analysis using RT-PCR and HRM values reveals that there is to carry an potential for detection of resistance to diseases as well as racial discrimination.

CONFLICT OF INTEREST

The author (s) declared that there are no conflicts of interest under this title.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

The authors declared that there are no conflicts of interest under this title.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thanks to Tarbio Biotechnology Company for financial support of this study.

REFERENCES

- Aronstein, K., Colby, D., & Holloway, B. (2015). Validation of genetic markers associated with chalkbrood resistance. *Trends Entomology*, 11, 47-53.
- Chapman, N. C., Harpur, B. A., Lim, J., Rinderer, T. E., Allsopp, M. H., Zayed, A., & Oldroyd, B. P. (2015). A SNP test to identify Africanized honeybees via proportion of african ancestry. *Molecular Ecology Resources*, 15, 1346-1355. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12411>.
- Chavez-galarza, J., Henriques, D., Johnstone, J. S., Azevedo, J. C., Patton, J. C., Muñoz, I., De la rúa, P., & Pinto, M. A. (2013). Signatures of selection in the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) revealed by a genome scan analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs). *Molecular Ecology*, 22, 5890-5907. <https://doi.org/10.1111/mec.12537>.
- Donaldson, M. E., Christina M. Davy, Craig K. R. Willis, Scott McBurney, Allysia Park, Christopher J. Kyle. (2017) Profiling the immunome of little brown myotis provides a yardstick for measuring the genetic response to white-nose syndrome. *Evol. Appl.* 10, 1076–1090.
- Elbers, J. P., Brown, M. B. & Taylor, S. S. (2018) Identifying genome-wide immune gene variation underlying infectious disease in wildlife populations: A next generation sequencing approach in the gopher tortoise. *BMC Genom.* 19, 64.
- Gerdts, J. R., Roberts, J. M. K., Simone-Finstrom, M., Ogbourne, S. M., & Tucci, J. (2021). Genetic variation of *Ascosphaera apis* and colony attributes do not explain chalkbrood disease outbreaks in Australian honey bees. *Journal of Invertebra Pathology*. 180, 107540. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107540>.
- Gupta, P., Conrad, T., Spötter, A., Reinsch, N., & Bienefeld, K. (2012). Simulating a base population in the honey bee for molecular genetic studies. *Genetics Selection Evolution*, 44(14). <https://doi.org/10.1186/1297-9686-44-14>
- Han, F. (2012). *Genome wide analysis of genetic variation in honeybee, Apis mellifera* [Degree project]. Biology Education Centre and Department of Medical Bio chemistry and Microbiology Uppsala University, Uppsala.

- Han, F., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2012). From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate?. *Ecology and Evolution*, 2(8), 1949-1957. <https://doi.org/10.1002%2Fece3.312>.
- Henriques, D., Jara, L., Chávez-Galarza, J., Rufino Amaro, J., De la Rúa, P., & Pinto, M. A. (2013). *Introgression levels of the Italian and carniolan honey bee subspecies into the black honey bee: a comparison between microsatellite and single nucleotide polymorphism (SNP) markers*. Instituto Politécnico de Bragança Biblioteka Digital.
- Henriques D, Lopes AR, Chejanovsky N, Dalmon A, Higes M, Jabal-Uriel C, Le Conte Y, Reyes-Carreño M, Soroker V, Martín-Hernández R, Pinto MA. (2021) A SNP assay for assessing diversity in immune genes in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Sci Rep.* 28;11(1):15317. doi: 10.1038/s41598-021-94833-x. PMID: 34321557; PMCID: PMC8319136.
- Holloway, B., Tarver, M. R., & Rinderer, T. (2013). Fine mapping identifies significantly associating markers for resistance to the honey bee brood fungal disease, Chalkbrood. *Journal of Apicultural Research* 52(3), 134-140. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.3.04>.
- Holloway, B., Sylvester, H. A., Bourgeois, L., & Rinderer, T. (2015). Association of single nucleotide polymorphisms to resistance to chalkbrood in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 51(2), 154-163. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.2.02>.
- Holloway, Beth, Sylvester, H, Bourgeois, L., Rinderer, T. (2012). Association of single nucleotide polymorphisms to resistance to chalkbrood in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 51, 154-163. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.2.02>.
- Iglesias, M. S., & Grzelczak, M. (2020). Using gold nanoparticles to detect single-nucleotide polymorphisms: toward liquid biopsy. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 11, 263-284. <https://doi.org/10.3762%2Fbjnano.11.20>
- Johnson, L. S. (2011). *Apis mellifera (Honey Bee) a teacher's companion* [MEd Project]. Antioch University New England, Antioch.
- Komar, A. A. (2009). *Single Nucleotide Polymorphisms; Methods in Molecular Biology*; Humana Press: New York City, NY, U.S.A. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1>.
- Kongchum, P., Palti, Y., Hallerman, E. M., Hulata, G. & David, L. (2010) SNP discovery and development of genetic markers for mapping innate immune response genes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Shellfish Immunol.* 29, 356–361.
- Kosch, T.A., C. N. S. Silva, L. A. Brannelly, A. A. Roberts, Q. Lau, G. Marantelli, L. Berger, L. F. Skerratt. (2019) Genetic potential for disease resistance in critically endangered amphibians decimated by chytridiomycosis. *Anim. Conserv.* 22, 238–250.
- Kwak, M. M., Velterop, O., & Boerigter, E. J. M. (1996). Insect diversity and the pollination of rare plant species. In: A. Matheson, S. L. Buchmann, C. O'Toole, P. Westrich, & I. H. Williams (eds), *The conservation of bees*. Academic Press.
- Liu, Yuanzhen, Yan, L. Li, Zhiguo, Huang, Wei-Fone, Liu, X, Su, Songkun. (2016). Larva-mediated chalkbrood resistance-associated single nucleotide polymorphism markers in the honey bee *Apis mellifera*. *Insect molecular biology*. 25. 10.1111/imb.12216.
- Pinto, M. A., Henriques, D., Chávez-Galarza, J., Kryger, P., Garnery, L., van der Zee, R., Dahlee, B., Soland-Reckweg, G., de la Rúa, P., Dall' Olio, R., Carreck, N. L., & Johnston, J. S. (2014). Genetic integrity of the dark european honeybee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genomewide assessment using SNPs and mtDNA sequence data, *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 269-27. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.08>.
- Rehner, Steve & Evans, Jay. (2009). Microsatellite loci for the fungus *Ascosphaera apis*: Cause of honey bee chalkbrood disease. *Molecular Ecology Resources*. 9. 10.1111/j.1755-0998.2008.02455.x.
- Schork, N. J., Fallin, D., & Lanchbury, S. (2000). Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology, *Clinical Genetics*, 58, 250-264. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2000.580402.x>
- Seçgin, Z. (2015). *Domates genotiplerinde farklı besi ortamlarında kallus gelişimi ve genetik farklılığın RAPD markörleri ile belirlenmesi*, [Yüksek Lisans Tezi], Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>.
- Shi, Y. Y., Sun, L. X., Huang, Z. Y., Wu, X. B., Zhu, Y. Q., Zheng, H. J., & Zeng, Z. J. (2013). A SNP based high-density linkage map of *Apis cerana* reveals a high recombination rate similar to *Apis mellifera*. *PLoS ONE*, 8(10), e76459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076459>.
- Tunca, I. R. (2009). *Determination and comparison of genetic variation in honeybee (Apis mellifera L.) populations of turkey by random amplified polymorphic dna and microsatellite analyses*, [Doktora Tezi], Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, ANKARA. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>.
- Wallberg, A., Wellhagen, G., Dahle, B., Kawata, M., Haddad, N., Simões, Z. L. P., Allsopp, M. H., Kandemir, I., De la Rúa, P., Pirk, C. W., & Webster, T. W. (2014). A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature Genetics*, 46, 1081-1088. <https://doi.org/10.138/ng.3077>.



Physical and Physiological Properties and Mineral Content of Curly Lettuce Grown by Applying Different Rates of Biochar to the Soil with Varying Irrigation Water Levels

Değişen Sulama Suyu Seviyeleriyle Toprağa Farklı Oranlarda Biyoçar Uygulanarak Yetiştirilen Kıvrıkcık Marulun Fiziksel ve Fizyolojik Özellikleri ile Mineral Madde İçeriği

Şefik Tüfenkçi¹ , Caner Yerli² 

Received: 24.02.2023

Accepted: 28.03.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: The crisis experienced from the water supply causes food production to be adversely affected in the agriculture sector, which is the biggest consumer of water. The deficit irrigation strategy ensures the continuity of food production as well as using water effectively. However, since the plant grown in this strategy is exposed to abiotic stress, it experiences significant yield and quality losses. For this reason, it is necessary to develop approaches to improve yield and quality losses of the plant grown with deficit irrigation. In this study, the physical and physiological properties and mineral content of curly lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Crispa*) grown by applying different rates of biochar to the soil (0%, 1%, 2%, 3%) with varying irrigation water levels (100%, 67%, 33%) researched. The study determined that decreasing irrigation water level decreased plant height, stem diameter, number of leaves, root wet and dry weights, plant weight, chlorophyll and leaf relative water contents, stomatal conductivity and N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn and Zn contents of curly lettuce, while increasing the membrane damage index, but the physical and physiological properties and mineral content affecting the yield and quality of curly lettuce improved with increasing biochar rates. In the study, as a result of the emergence of the highest stress factor in irrigation at 33% level, it was observed that physical and physiological properties and mineral content of curly lettuce were affected at the highest level, and the dose of biochar, which managed the stress most effectively, was 3%. As a result, considering that biochar has an important potential to improve yield and quality losses of curly lettuce grown under deficit irrigation conditions, the use of biochar in the deficit irrigation regime were found to be recommendable.

Keywords: Biochar, curly lettuce, deficit irrigation, irrigation water level, mineral content

&

Öz: Su arzından yaşanan kriz suyun en büyük tüketicisi olan tarım sektöründe gıda üretiminin olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır. Kısıntılı sulama stratejisi suyu etkin kullanmanın yanı sıra gıda üretiminin sürekliliğini de sağlamaktadır. Ancak bu stratejide yetişen bitki abiyotik strese maruz kaldığı için önemli verim ve kalite kayıpları yaşamaktadır. Bu nedenle kısıntılı sulamayla yetiştirilen bitkinin verim ve kalite kayıplarını iyileştirmeye yönelik yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada değişen sulama suyu seviyeleriyle (% 100, % 67 ve % 33) toprağa farklı oranlarda biyoçar uygulanarak (% 0, % 1, % 2 ve % 3) kıvrıkcık marulun (*Lactuca sativa* L. var. *Crispa*) fiziksel ve fizyolojik özellikleri ile mineral madde içeriği araştırılmıştır. Çalışma azalan sulama suyu seviyesinin kıvrıkcık marulun bitki boyunu, gövde çapını, yaprak sayısını, kök yaş ve kuru ağırlıklarını ve bitki ağırlığını, klorofil ve yaprak bağıl su içeriklerini, stoma iletkenliğini ve N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn ve Zn içeriklerini azaltırken membran zararlanma indeksini artırdığını ancak kıvrıkcık marulun verim ve kalitesini etkileyen fiziksel ve fizyolojik özellikleri ile mineral madde içeriğinin artan biyoçar oranlarıyla gelişim gösterdiğini belirlemiştir. Çalışmada % 33 seviyesinde sulamada en yüksek stres faktörünün ortaya çıkması sonucunda kıvrıkcık marulun fiziksel ve fizyolojik özellikleri ile mineral madde içeriğinin en yüksek seviyede etkilendiği ve stresi en etkili yöneten biyoçar dozunun ise % 3 oranında gerçekleştiği görülmüştür. Sonuç olarak kısıntılı sulama koşullarında yetiştirilen kıvrıkcık marulun verim ve kalite kayıplarını iyileştirmeye yönelik biyoçarın önemli bir potansiyelinin olduğu dikkate alınarak kısıntılı sulama rejiminde biyoçarın kullanımı önerilebilir olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Biyoçar, kıvrıkcık marul, kısıntılı sulama, sulama suyu seviyesi, mineral madde içeriği

Cite as: Tüfenkçi, Ş., & Yerli, C. (2023). Physical and Physiological Properties and Mineral Content of Curly Lettuce Grown by Applying Different Rates of Biochar to the Soil with Varying Irrigation Water Levels. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 9(2), 205-217. doi: 10.24180/ijaws.1255958

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Prof. Dr. Şefik Tüfenkçi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü, sefiktufenkci@yyu.edu.tr (Corresponding author)

² Araş. Gör. Dr. Caner Yerli, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü, caneryerli@yyu.edu.tr

INTRODUCTION

Agriculture, which is the largest consumer of the world's freshwater use, is struggling to meet its food needs in the face of increasing population and global warming (Chai et al., 2016). While more food production is required to meet the demand of the increasing population, the increase in plant water consumption with the increasing severity of global warming reveals the need for more water. However, although water has a renewable character, it is actually a limited natural resource. While it is not possible to increase the amount of freshwater, the increasing population and global warming also lead to a significant reduction in the amount of existing freshwater resources by polluting them. It is predicted that the world population will increase by 30% in 2050 year (Godfray et al., 2010), and it is stated that water resources and agricultural areas should be increased by 53% and 38%, respectively, to meet the food demand of this increasing population (Mancosu et al., 2015). Currently, 2.5 billion people have problems accessing water of suitable water quality (Schiermeier, 2014), and it is estimated that more than 20% of the world's population may face water scarcity in the near future (Girones et al., 2010).

It is certain that the crisis in water supply has affected the agricultural sector on the largest scale. Imbalances in food production in the agricultural sector, which is affected by insufficient water resources, cause food security and food crisis risks to accelerate (Kang et al., 2017). For this reason, irrigation in agricultural production should be managed more effectively and food production should be continued with less water input. Deficit irrigation, in which less than the amount of water needed by the plant is supplied to the plant, ensures continuity in production, especially in regions where water resources are insufficient. In addition, deficit irrigation, which reveals the possibility of opening more areas to irrigation with the amount of water that is restricted from here, is considered as a food production model that provides significant water savings in agricultural production (Chai et al., 2014). However, it is inevitable that the cellular and physiological functions of the plant, which is experiencing water stress, are negatively affected by deficit irrigation, resulting in a decrease in yield and quality (Chai et al., 2016). For this reason, it is necessary to make improvements with practical approaches to compensate for the yield and quality losses in plants grown with the deficit irrigation regime.

The biochar material with a coaly structure, which is formed as a result of the thermal decomposition of the biomass by pyrolysis at high temperatures under limited oxygen conditions, is a good soil conditioner. Biochar, an environmentally friendly material, increases the carbon stocks in the soil with its rich organic carbon content, both regulating soil fertility and saving water by improving the water holding capacity of the soil (Yang et al., 2020). In addition, the porous structure and spongy nature of the biochar reveal the effective management of irrigation water by storing more water within it (Ahmad et al., 2014). Biochar makes important contributions to the improvement of soil fertility by providing nutrients to the soil and increasing the availability of nutrients (Zhu et al., 2017). Biochar, which increases the surface area of the soil and improves the cation exchange capacity, supports the improvement of plant yield and quality by retaining nutrients and water in the soil (Egamberdieva et al., 2017). Plants that face various biotic and abiotic stresses can overcome these stress conditions more easily with biochar (Semida et al., 2019). All these superior characteristics of biochar have brought it to the forefront as a practical organic material that regulates soil water and increases water use efficiency in arid conditions.

Since vegetables are very sensitive to drought stress, they experience significant decreases in yield and quality under water stress conditions, especially in arid and semi-arid regions. However, this decrease in yield and quality can be improved by mitigating the water stress experienced with biochar applied to the soil (Yildirim et al., 2021). To our best knowledge, although there were some studies in the literature investigating the effectiveness of biochar on the yield and quality of some vegetables grown under water deficit conditions, no studies were found examining the effects of biochar under drought stress conditions on curly lettuce, which has an important potential among leafy green vegetables and makes up about half (252 thousand tons) of the 562 thousand tons of lettuce produced in Turkey (TUIK, 2023). Therefore, this study focusing on the effects on the physical and physiological properties and mineral content of the plant when irrigated with varying irrigation water levels of curly lettuce grown in soil treated with biochar at

different rates, hypothesized that increasing rates of biochar would reduce the adverse effects of curly lettuce exposed to drought stress.

MATERIAL AND METHOD

The experiment was carried out in a plastic covered greenhouse and during the experiment, daily mean temperature and humidity were $23\pm 4^{\circ}\text{C}$ and $48\pm 6\%$. The experiment, which was created with a completely randomized design with 3 replications, was carried out by irrigating curly lettuce soil in which biochar was mixed on the basis of dry weight at 4 different rates [B0: 0% (no biochar), B1: 1%, B2: 2%, B3: 3% biochar] at 3 varying irrigation levels [I100: irrigation at 100% (full irrigation), I67: 67%, I33: 33% levels]. Thus, the total number of pots (volume: 4 liters, diameter: 19 cm, height: 18 cm) in the experiment was 36 (3 replications \times 4 biochars \times 3 irrigation water levels).

Before the experiment, the pH and EC of the soil and biochar were determined by pH meter and conductive meter (McLean, 1982; Corwin and Rhoades, 1984), while the organic matter and total N content were determined according to the Walkley-Black and Kjeldahl methods (Nelson and Sommers, 1982; Bremner and Mulvaney, 1982). According to the soil texture determined by the Bouyoucos hydrometer method (Gee and Bauder, 1986), pH, EC, organic matter and total N values of the sandy loam soil (sand: 66%, silt: 16%, clay: 18%) were 7.17, 0.62 dS m^{-1} , 0.81% and 0.04, respectively. The same values of biochar were 9.65, 4.26 dS m^{-1} , 56.11% and 1.80%, in the same order. In the experiment, pyrolyzed oak biochar material at 400°C was used as the biochar material.

The sieved and homogenized biochar was mixed with the sieved air-dried soil and transferred to pots. The seedlings of the Campania variety of curly lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Crispa*) obtained from a commercial company, planted in two per pot, were diluted in the next period and the experiment was continued with one seedling in each pot. After planting, the current soil moisture was completed to the field (pot) capacity by irrigating, and irrigations were continued at three-day intervals until the harvest period. After the seedlings were planted, the first three irrigations were carried out by weighing the weight of the current moisture in the control treatment that did not apply biochar [0% (no biochar)] and completing to the pot capacity according to this determined soil moisture, with full irrigation at the same level for all treatments. In subsequent irrigations, deficit irrigations were started and irrigations at varying irrigation water levels [irrigation at 100% (full irrigation), 67%, 33% levels] were continued until the harvest period, taking into account the weight of the current moisture in the control treatment.

At the end of approximately three month experiment, plant height was determined by measuring with the help of a ruler. The stem diameter was measured with a digital caliper. The number of leaves was obtained by counting the leaves of each plant by peeling them off. Root wet weight was determined by weighing the root sample after cleaning with distilled water, and then the same sample was dried in an oven at 65°C until it reached a constant weight and thus root dry weight was obtained. Plant weight was determined by weighing each harvested plant on a scale.

To determine the chlorophyll content, measurements were taken from ten different points of each plant with the SPAD-502 chlorophyllmeter device and the mean of these measurements was recorded. Leaf relative water content was calculated according to Smart and Barss (1973) by determining the weights of fresh leaf samples, leaf samples kept in distilled water for 4 hours and the same leaf samples kept in an oven at 65°C for 48 hours. Disc samples taken from leaves were kept in ionized water for 24 hours and their electrical conductivity was measured, and then the same samples were kept in a water bath at 95°C for 20 minutes and their electrical conductivity was measured again, and finally, the membrane damage index by using these two electrical conductivity values was determined by measuring the electrolyte coming out of the leaf cells (Jamei et al., 2009). To measure pore activity, stomatal conductivity was measured from five different points of each plant with the Decagon SC-1 diffusion leaf porometer device (Kiran et al., 2014; Camoglu and Demirel, 2015).

For the mineral content (N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn, Zn) of plant samples, the samples were dried and ground and subjected to wet burning. While the Kjeldahl method was used for the N content of plant

samples (AOAC, 2005), the other mineral content was obtained by readings with an Inductively Coupled Plasma spectrophotometer (Kalra, 1997).

SPSS program was used in the statistical evaluation of the obtained data. The significant means of the data evaluated with the General Linear Model were classified with the Duncan multiple range test at the 5% probability level.

RESULTS AND DISCUSSION

The physical properties of curly lettuce (plant height, stem diameter, number of leaves, root wet and dry weight, plant weight) were significantly ($p < 0.01$) affected by varying irrigation water levels and biochar treatments at different rates (Table 1). While the physical properties of curly lettuce decreased with decreasing irrigation water levels, these physical properties improved with increasing rates of biochar (Figure 1).

The decrease in the physical properties of curly lettuce with the decreasing irrigation water level can be explained by the decreasing moisture in the soil and the exposure of the plant to drought stress. The weakening of the plant's nutrient uptake from the soil due to the decrease in soil water storage with deficit irrigation can be expressed as the reason for lower physical development. The decrease in the mineral content of curly lettuce under the conditions of decreasing irrigation water level supports this situation (Figure 3). Lettuce is a plant that is highly dependent on water for its potential to improve its physical properties and increase its yield (Montenegro et al., 2011). There is a linear relationship between the physical properties affecting the lettuce yield and the water consumption of the lettuce (Karipcin and Satir, 2016). Water stress adversely affects the organs involved in cell functions and photosynthesis, and causes the plant's physical properties to weaken (Muller et al., 2011). Increasing drought stress reduces the chlorophyll content of lettuce (Figure 2), which is the reason why the plant displays a lower level of physical characteristics as a result of decreased metabolic functions (Yazgan et al., 2008). In line with the findings of this study, the results of different studies also stated that the decreasing irrigation water level reduces the physical properties of lettuce (Senyigit and Kaplan, 2013; Karipcin and Satir, 2016; Al-Bayati and Sahin, 2018).

The increase in the physical properties of curly lettuce with increasing biochar rates can be explained by the plant's more effective management of nutrients in the root profile under biochar conditions and the addition of nutrients to the soil by biochar. The increase in the mineral content of curly lettuce under the conditions of increasing biochar rates supports this situation (Figure 3). Depending on its porous structure and surface load holding capacity, biochar improves the nutrient holding capacity of the soil and increases the physical properties of the plant (Hossain et al., 2020). Biochar makes soil suitable for nutrient mobility as a nutrient pool and for increasing the bioavailability of nutrients (Gul and Whalen, 2016). The biochar creates a better environment for soil microorganisms also supports the conversion of nutrients into useful forms by plants and ensures the improvement of plant yield (Li et al., 2017). The fertilizer characteristic of biochar as a soil conditioner transforms the soil into an environment where the plant can increase productivity in terms of macro and micro nutrients (Purakayastha et al., 2019). In addition, biochar may have kept the soil water in its body for a longer period time and increased the use of soil moisture by the plant, resulting in the better physical development of the plant. Thanks to its porous structure, hydrophilic and large surface area, biochar can able to preserve the water in the soil for a longer period of time without being exposed to evaporation, so biochar uses soil moisture effectively, improves the conditions for plant growth and increases plant productivity (Razzaghi et al., 2020). The improvement of soil physical properties of biochar also contributes to more effective management of soil moisture. The decrease in the bulk density of the soil applied with biochar and the increase in its porosity provide the development of the soil water reservoir (Laghari et al., 2016). Mandal et al. (2021) reported that the water holding capacity of biochar treated sandy, loamy and clayey soils increased with the contribution of biochar. All these favorable conditions of the biochar improved soil provide a better development of the plant and increase the physical properties of the plant. Sabatino et al. (2020) stated that the improvement of the physical properties of curly lettuce grown in biochar treated soil is reflected in the yield of curly lettuce.

Physical and Physiological Properties and Mineral Content of Curly Lettuce Grown by Applying Different Rates of Biochar to the Soil with Varying Irrigation Water Levels

Table 1. The variance analysis results.

Çizelge 1. Varyans analizleri sonuçları.

Source	df	Mean square	F	P	Mean square	F	P
				Plant height			
Irrigation	2	323.531	318.575	0.000	99.194	66.130	0.000
Biochar	3	16.472	16.220	0.000	18.324	12.216	0.000
Interaction	6	1.386	1.365	0.269	0.380	0.523	0.953
Error	24	1.016			1.500		
				Stem diameter			
Irrigation	2	247.861	114.397	0.000	124.059	305.479	0.000
Biochar	3	27.778	12.821	0.000	14.541	35.806	0.000
Interaction	6	0.306	0.141	0.989	0.120	0.297	0.933
Error	24	2.167			0.406		
				Number of leaves			
Irrigation	2	247.861	114.397	0.000	124.059	305.479	0.000
Biochar	3	27.778	12.821	0.000	14.541	35.806	0.000
Interaction	6	0.306	0.141	0.989	0.120	0.297	0.933
Error	24	2.167			0.406		
				Root wet weight			
Irrigation	2	4.751	42.651	0.000	102 747.250	433.889	0.000
Biochar	3	2.501	22.453	0.000	6 424.037	27.128	0.000
Interaction	6	0.008	0.074	0.998	93.843	0.396	0.874
Error	24	0.111			236.806		
				Root dry weight			
Irrigation	2	4.751	42.651	0.000	102 747.250	433.889	0.000
Biochar	3	2.501	22.453	0.000	6 424.037	27.128	0.000
Interaction	6	0.008	0.074	0.998	93.843	0.396	0.874
Error	24	0.111			236.806		
				Plant weight			
Irrigation	2	4.751	42.651	0.000	102 747.250	433.889	0.000
Biochar	3	2.501	22.453	0.000	6 424.037	27.128	0.000
Interaction	6	0.008	0.074	0.998	93.843	0.396	0.874
Error	24	0.111			236.806		
				Chlorophyll			
Irrigation	2	670.110	420.718	0.000	554.937	478.509	0.000
Biochar	3	30.799	19.337	0.000	63.670	54.901	0.000
Interaction	6	0.367	0.230	0.963	0.425	0.367	0.893
Error	24	1.593			1.160		
				Leaf relative water content			
Irrigation	2	670.110	420.718	0.000	554.937	478.509	0.000
Biochar	3	30.799	19.337	0.000	63.670	54.901	0.000
Interaction	6	0.367	0.230	0.963	0.425	0.367	0.893
Error	24	1.593			1.160		
				Membrane damage index			
Irrigation	2	1 149.211	1 428.577	0.000	7 209.694	118.787	0.000
Biochar	3	28.453	35.370	0.000	1 168.769	19.257	0.000
Interaction	6	0.653	0.812	0.571	27.102	0.447	0.840
Error	24	0.804			60.694		
				Stomatal conductivity			
Irrigation	2	1 149.211	1 428.577	0.000	7 209.694	118.787	0.000
Biochar	3	28.453	35.370	0.000	1 168.769	19.257	0.000
Interaction	6	0.653	0.812	0.571	27.102	0.447	0.840
Error	24	0.804			60.694		
				N			
Irrigation	2	5.094	268.760	0.000	1.342	108.266	0.000
Biochar	3	1.371	72.351	0.000	0.475	38.340	0.000
Interaction	6	0.009	0.497	0.804	0.004	0.338	0.910
Error	24	0.019			0.012		
				P			
Irrigation	2	5.094	268.760	0.000	1.342	108.266	0.000
Biochar	3	1.371	72.351	0.000	0.475	38.340	0.000
Interaction	6	0.009	0.497	0.804	0.004	0.338	0.910
Error	24	0.019			0.012		
				K			
Irrigation	2	3.526	199.763	0.000	1.639	130.950	0.000
Biochar	3	0.339	19.211	0.000	0.243	19.448	0.000
Interaction	6	0.002	0.124	0.992	0.004	0.283	0.939
Error	24	0.018			0.013		
				Ca			
Irrigation	2	3.526	199.763	0.000	1.639	130.950	0.000
Biochar	3	0.339	19.211	0.000	0.243	19.448	0.000
Interaction	6	0.002	0.124	0.992	0.004	0.283	0.939
Error	24	0.018			0.013		
				Mg			
Irrigation	2	0.331	224.303	0.000	1.065	128.913	0.000
Biochar	3	0.032	21.661	0.000	0.200	24.258	0.000
Interaction	6	0.000	0.323	0.919	0.002	0.184	0.979
Error	24	0.001			0.008		
				Na			
Irrigation	2	0.331	224.303	0.000	1.065	128.913	0.000
Biochar	3	0.032	21.661	0.000	0.200	24.258	0.000
Interaction	6	0.000	0.323	0.919	0.002	0.184	0.979
Error	24	0.001			0.008		
				Fe			
Irrigation	2	34 435.845	615.425	0.000	87.879	3 193.657	0.000
Biochar	3	7 515.483	130.524	0.000	0.242	8.798	0.000
Interaction	6	155.450	2.700	0.038	0.002	0.074	0.998
Error	24	57.579			0.028		
				Cu			
Irrigation	2	34 435.845	615.425	0.000	87.879	3 193.657	0.000
Biochar	3	7 515.483	130.524	0.000	0.242	8.798	0.000
Interaction	6	155.450	2.700	0.038	0.002	0.074	0.998
Error	24	57.579			0.028		
				Mn			
Irrigation	2	12.593	1 707.539	0.000	235.436	357.000	0.000
Biochar	3	0.201	27.250	0.000	23.953	36.321	0.000
Interaction	6	0.005	0.637	0.699	0.648	0.983	0.458
Error	24	0.007			0.659		
				Zn			
Irrigation	2	12.593	1 707.539	0.000	235.436	357.000	0.000
Biochar	3	0.201	27.250	0.000	23.953	36.321	0.000
Interaction	6	0.005	0.637	0.699	0.648	0.983	0.458
Error	24	0.007			0.659		

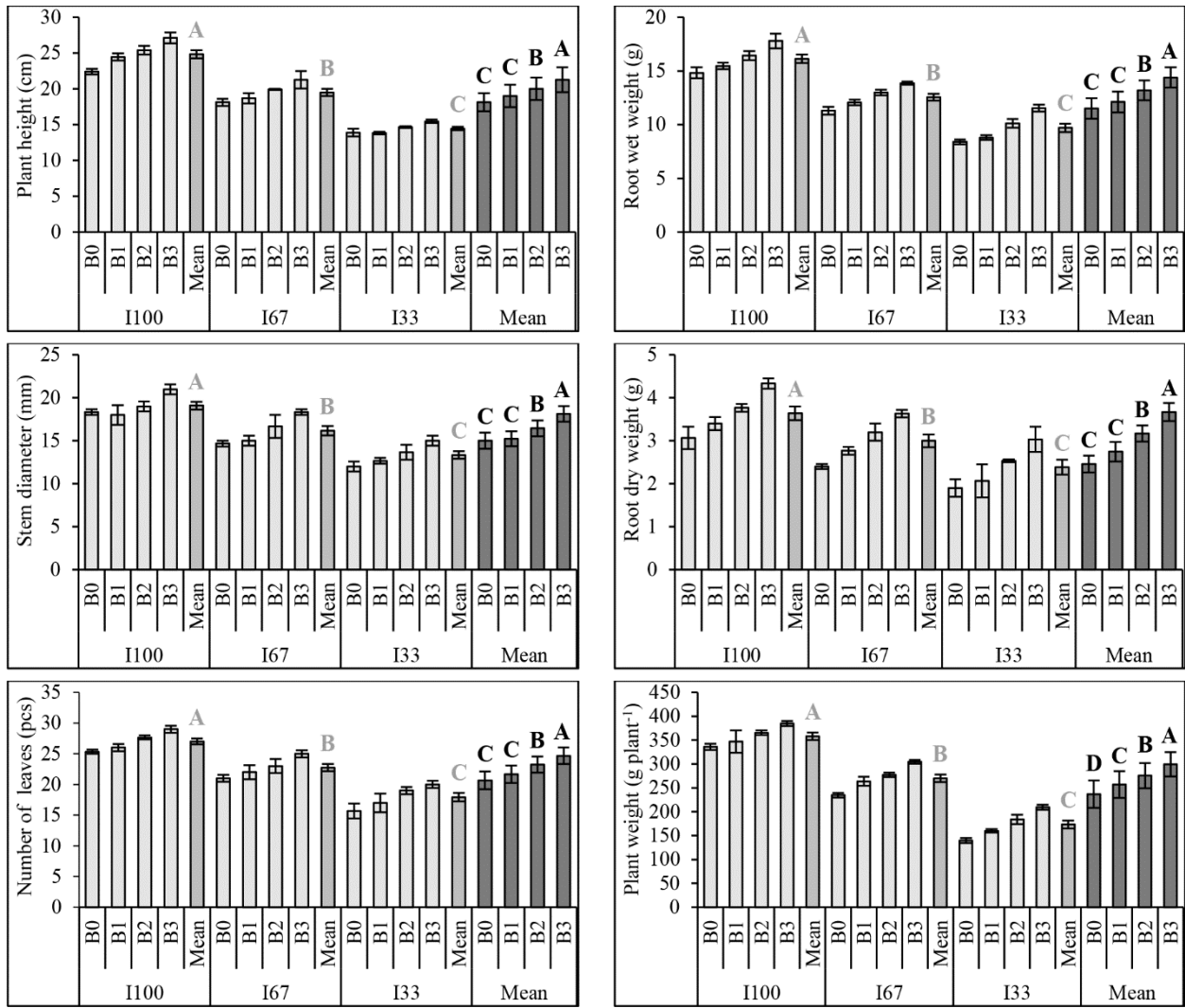


Figure 1. Physical properties of curly lettuce in varying irrigation water levels and biochar treatments at different rates.

Şekil 1. Değişen sulama suyu seviyelerinde ve farklı oranlarda biyokömür uygulamalarında kıvrık marulun fiziksel özellikleri.

The physiological properties of curly lettuce (chlorophyll content, leaf relative water content, membrane damage index, stomatal conductivity) were significantly ($p < 0.01$) affected by varying irrigation water levels and biochar treatments at different rates (Table 1). While the chlorophyll content, leaf relative water content and stomatal conductivity of curly lettuce decreased and the membrane damage index increased with decreasing irrigation water levels, the chlorophyll content, leaf relative water content and stomatal conductivity of curly lettuce increased and membrane damage index decreased with increasing rates of biochar (Figure 2).

The decrease in the chlorophyll content of curly lettuce with the decreasing irrigation water level can be explained by insufficient soil moisture due to drought conditions. Chlorophyll, which is a clear indicator of water stress, decreases with the inhibition of chlorophyll functions in increasingly deficit irrigation conditions (Bauerle et al., 2004). The decrease in the water potential of the leaves of the plant exposed to drought with the decreasing irrigation water level can be expressed as the reason for the decreased leaf relative water content under deficit irrigation conditions. Since there is a linear relationship between plant water consumption and leaf relative water content, increased moisture conditions in the soil explain more leaf relative water content (Yazdic and Degirmenci, 2018). Insufficient soil moisture causes significant damage to membrane systems by negatively affecting the membrane structure of the cell (Yildirim et al., 2022). Increasing drought stress may cause damage to cell membrane systems by decreasing the leaf relative water content of lettuce (Figure 2) with increasing leaf temperature. In addition, decreasing

chlorophyll content in arid conditions (Figure 2) may increase the damage to cell membrane systems as a result of damage to mesophyll cells (Marcińska et al., 2013). Thus, the increase in the membrane damage index of curly lettuce with the decreasing irrigation water level can be explained in this way. In addition, drought due to decreasing irrigation water levels also causes a decrease in the stomatal conductivity of the plant (Oukaltouma et al., 2022). In this study also, it was observed that the stomatal conductivity of curly lettuce decreased under increasing drought conditions. Similarly, Camoglu et al. (2019) also stated that increasing deficit irrigation significantly reduced the stomatal conductivity of tomatoes. While decreasing moisture in the soil decreases the chlorophyll content, the leaf relative water content and the stomatal conductivity of the plant, it causes an increase in the membrane damage index (Ors and Ekinci, 2015). With increasing drought stress, the decrease in stomatal conductivity and leaf relative water content, and then the closure of stomata and the decrease in chlorophyll content and the increase in membrane damage index as a result of increasing leaf temperature can be listed as the chain effects of decreasing soil moisture on plant physiology.

The increase in chlorophyll content of curly lettuce with increasing biochar rates can be explained that biochar increases the plant's nutrient uptake from the soil. The increase in the mineral content of curly lettuce under increasing biochar rates also supports this situation (Figure 3). While Fe is involved in chlorophyll formation and protein development (Pushnik et al., 1984), decreasing N weakens chlorophyll growth since N is a building block of chlorophyll (Bojović and Marković, 2009). In addition, the presence of micronutrients in the soil supports the formation of chlorophyll by being carried to the plant leaves, and this results in an increase in the chlorophyll content of the plant (Bolat and Kara, 2017). Qianqian et al. (2022) stated that biochar increased the chlorophyll content of lettuce. Considering the water retention supporting property of biochar in the soil (Ahmad et al., 2014), the reason for the increase in the leaf relative water content and the decrease in the membrane damage index of curly lettuce under increasing rates of biochar can be explained. Cornelissen et al. (2013) stated that improving the water holding capacity of the soil increases the water storage of the plant, while it was reported as a result of a different study that the leaf relative water content of the plant increased with this improvement provided by the biochar. Karabay et al. (2021) stated that the membrane damage index of peas decreased in conditions where increasing doses of biochar were applied to the soil compared to the control treatment, and they explained this decrease with the longer protective effect of biochar on soil moisture. In addition, the decrease in the membrane damage index of curly lettuce with increasing biochar rates can also be explained by the increase in the protective enzyme activity of biochar. Biochar treatment to the soil prevents the increase of membrane damage by improving the active oxygen capacity and membrane lipid peroxidation, as well as protective enzymes such as superoxide dismutase, catalase and guaiacol peroxidase (Lyu et al., 2016). Biochar reduces the membrane damage index by providing the processing of enzymes that improve the yield of the plant and increase the defense system (Yildirim et al., 2021). In addition, the effect of biochar on soil moisture retention also leads to an improvement in the stomatal conductivity of the plant (Tanure et al., 2019). In this study also, it was observed that the stomatal conductivity of curly lettuce increased with increasing biochar rates. Biochar manages soil moisture more effectively due to its special surface area and spongy structure (Ahmad et al. 2014) and increases the plant's use of soil water (Hossain et al., 2020). Thus, the stomatal conductivity of the plant that uses water more effectively is likely to increase. Similarly, Yıldırım et al. (2021) also stated that the stomatal conductivity of cabbage grown in biochar treated soil increased and this increase was due to the effect of biochar on soil moisture management and drought reducing effect.

The mineral content of curly lettuce (N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn, Zn) was significantly ($p < 0.01$) affected by varying irrigation water levels and biochar treatments at different rates (Table 1). While the mineral content of curly lettuce decreased with decreasing irrigation water levels, mineral content other than Na in curly lettuce increased with increasing rates of biochar, but the increase in Cu was at a lower level and Na decreased (Figure 3).

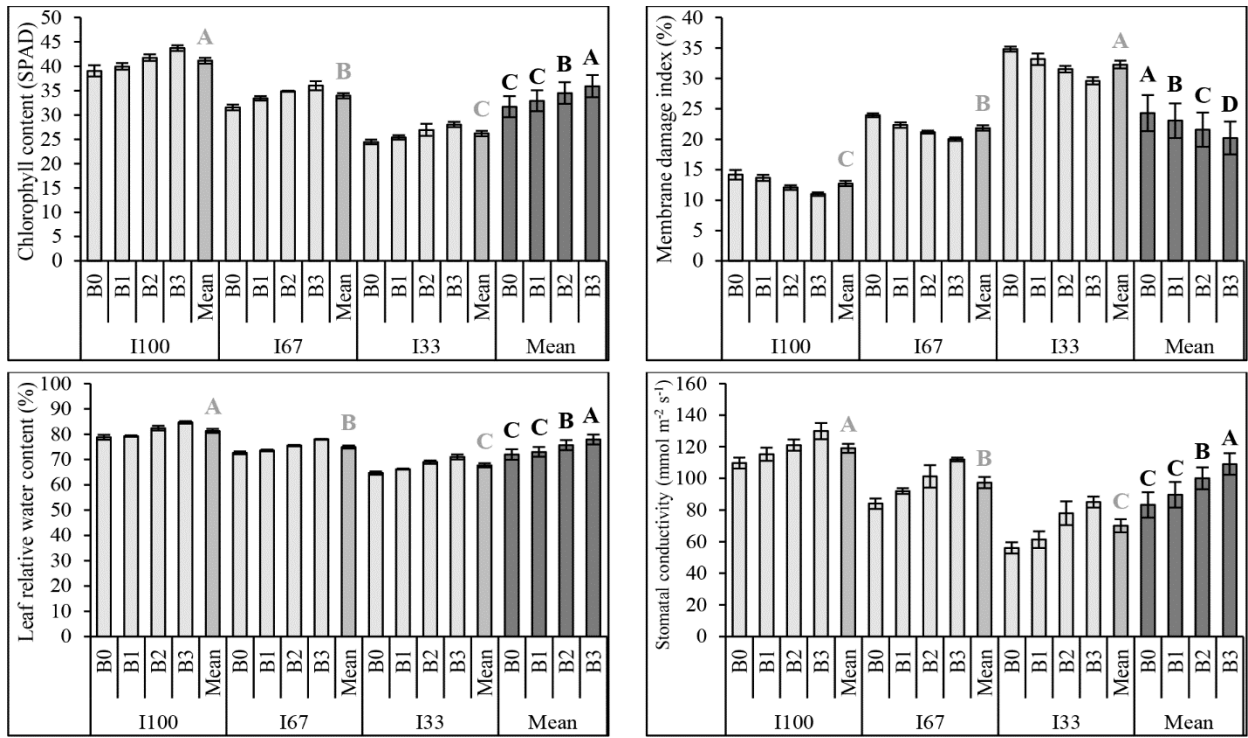


Figure 2. Physiological properties of curly lettuce in varying irrigation water levels and biochar treatments at different rates.

Şekil 2. Değişen sulama suyu seviyelerinde ve farklı oranlarda biyokömür uygulamalarında kıvrıkcık marulun fizyolojik özellikleri.

The decrease in the mineral content of curly lettuce with the decreasing irrigation water level can be explained by the limitation of nutrient intake as a result of the plant's limited water intake from the soil due to insufficient soil moisture. The plant performs less transpiration due to the decrease in soil water storage with deficit irrigation can be expressed as the reason for the decrease in the mineral content of curly lettuce in drought conditions. Similarly, Karıpcin and Satir (2016) and Demir et al. (2022) also stated that the mineral content of lettuce decreased under deficit irrigation conditions and that the highest mineral content was obtained from full irrigation conditions.

The increase in the mineral matter content of curly lettuce with increasing biochar rates can be explained by the nutrient content of biochar to the soil and the increase of biochar's nutrient uptake by the plant. Biochar may have supported the plant's uptake of more nutrients from the soil by improving the nutrient holding capacity of the soil (Hossain et al., 2020) and increasing the nutrient content of the soil with its content (Purakayastha et al., 2019). Biochar absorbs and preserves soil nutrients, preventing their loss and increasing their uptake and use by plants (Nguyen et al., 2017). Thus, this situation can be expressed as the reason for the increase in the mineral content of curly lettuce with increasing rates of biochar. Yıldırım et al. (2021) also stated that the mineral content of the plant increased with increasing rates of biochar due to the nutrient retaining and soil nutrient content increasing effects of biochar.

High accumulation of Na in the plant causes the plant to be exposed to toxicity by negatively affecting the osmotic balance of the plant and disrupting the nutrient distribution (Katerji et al., 2004). However, Na uptake of the plant grown in biochar treated soil is limited due to the increased demand for K, Ca and Mg from the plant (Chaganti et al., 2015). In particular, the competition between K and Na significantly affects the nutrient uptake of the plant through the roots. Biochar is an organic material that not only minimizes Na uptake by improving the K stock of the soil and increasing the K uptake of the plant, but also regulates the uptake of K and other nutrients from the soil (Akhtar et al., 2015). Thus, this situation explains the decrease in Na content of curly lettuce with increasing biochar rates. Similarly, Yue et al. (2016) also stated that biochar treatment increased the mineral matter uptake of the plant by reducing the Na uptake of the plant.

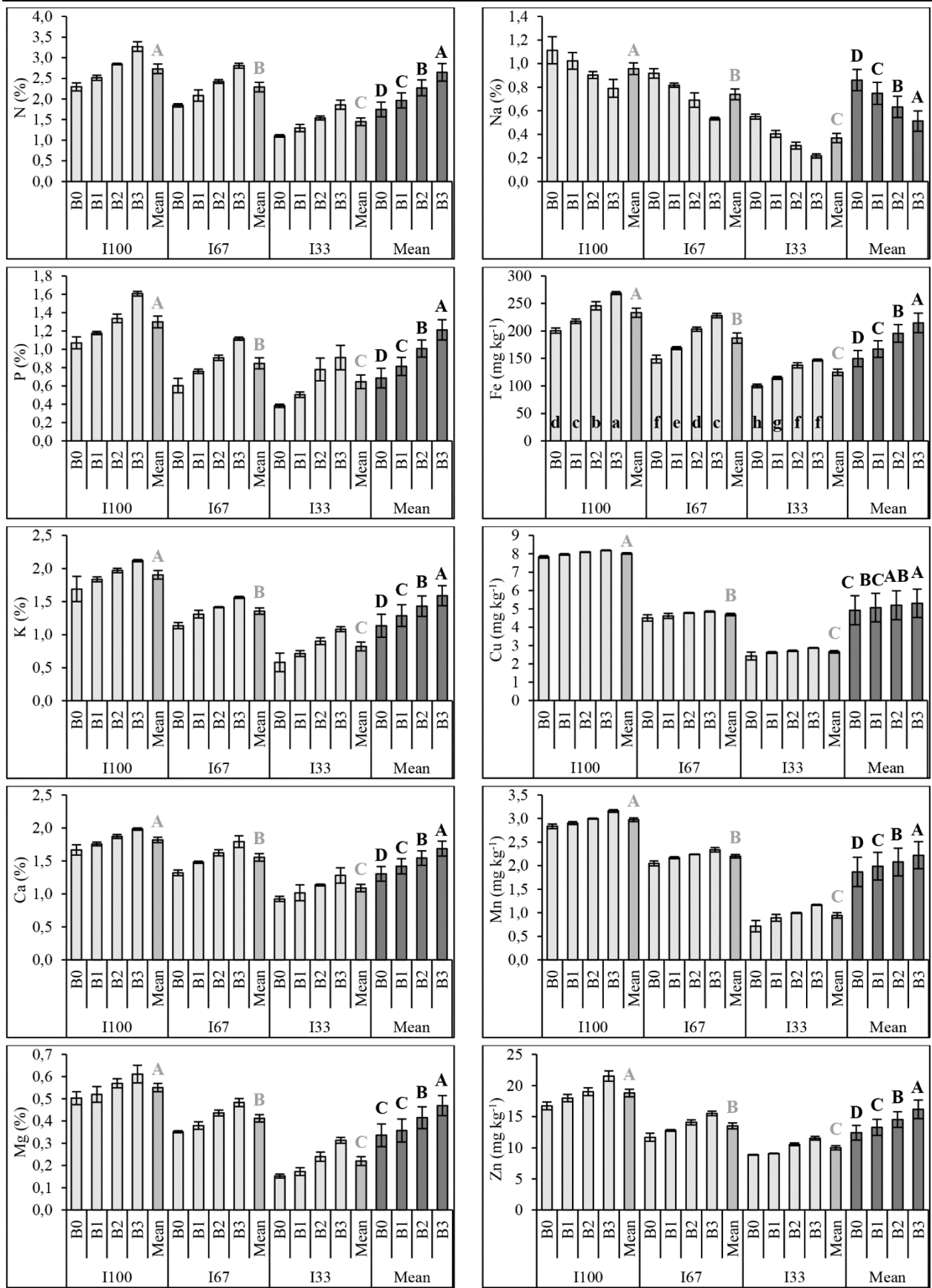


Figure 3. Mineral content of curly lettuce in varying irrigation water levels and biochar treatments at different rates.
 Şekil 3. Değişen sulama suyu seviyelerinde ve farklı oranlarda biyokömür uygulamalarında kıvrıkc marulun mineral madde içeriği.

CONCLUSION

This study, which examines the effects of irrigation with varying irrigation water levels of curly lettuce grown in soil treated with biochar at different rates on the physical and physiological properties and mineral content of the plant, determined that decreasing irrigation water level negatively affected the physical and physiological properties and mineral content of curly lettuce, but these negative effects that affect the yield and quality of curly lettuce improved with increasing biochar rates. In the study, the highest abiotic stress was obtained in the irrigation of curly lettuce at 33% level and the dose of biochar, which manages the stress most effectively, was 3%. As a result, considering the decrease in freshwater resources and the increase in drought in today's conditions, it was found that it can be suggested to use biochar to improve the physical and physiological properties and mineral content of curly lettuce irrigated with deficit irrigation, and to focus on integrated managements to improve yield in the deficit irrigation strategy for future studies.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

Şefik Tüfenkçi and Caner Yerli designed the study, participated in experiment, and drafted the manuscript.

REFERENCES

- Ahmad, M., Rajapaksha, A. U., Lim, J. E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., Vithanage, M., Lee, S. S., & Ok, Y. S. (2014). Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review. *Chemosphere*, 99, 19-33. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.071>.
- Akhtar, S. S., Andersen, M. N., & Liu, F. (2015). Residual effects of biochar on improving growth, physiology and yield of wheat under salt stress. *Agricultural Water Management*, 158, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.04.010>.
- Al-Bayati, Y. F. A., & Sahin, M. (2018). Determination of water-yield parameters of lettuce plantin Konya open field conditions. *Soil Water Journal*, 7(2), 38-45. <https://doi.org/10.21657/topraksu.460725>.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Association of Official Analytical Chemists (AOAC).
- Bauerle, W. L., Weston, D. J., Bowden, J. D., Dudley, J. B., & Toler, J. E. (2004). Leaf absorptance of photosynthetically active radiation in relation to chlorophyll meter estimates among woody plant species. *Scientia Horticulturae*, 101(1-2), 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.09.010>.
- Bojović, B., & Marković, A. (2009). Correlation between nitrogen and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Kragujevac Journal of Science*, 31(5827), 69-74.
- Bolat, I., & Kara, O. (2017). Plant nutrients: sources, functions, deficiencies and redundancy. *Journal of Bartın Faculty of Forestry*, 19(1), 218-228. <https://doi.org/10.24011/barofd.2513133>.
- Bremner, J. M., & Mulvaney, C. S. (1982). Nitrogen total 1. In: A. L. Page, M. H. Miller & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis* (pp. 903-948). America and Soil Science Society, Madison.
- Camoglu, G., & Demirel, K. (2015). The effects on yield and some physio-morphological traits of different salinity and potassium treatments in lettuce. *COMU Journal of Agriculture Faculty*, 3(1), 89-97.
- Camoglu, G., Demirel, K., Akcal, A., & Genc, L. (2019). The effects of water stress on the yield and physiological properties of table tomato. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludag University*, 33(1), 15-29.
- Chaganti, V. N., Crohn, D. M., & Simunek, J. (2015). Leaching and reclamation of a biochar and compost amended saline-sodic soil with moderate SAR reclaimed water. *Agricultural Water Management*, 158, 255-265. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.05.016>.
- Chai, Q., Gan, Y., Turner, N. C., Zhang, R. Z., Yang, C., Niu, Y., & Siddique, K. H. (2014). Water-saving innovations Chinese agriculture. *Advances in Agronomy*, 126, 149-201. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800132-5.00002-X>.
- Chai, Q., Gan, Y., Zhao, C., Xu, H. L., Waskom, R. M., Niu, Y., & Siddique, K. H. (2016). Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36, 1-21. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0338-6>.
- Cornelissen, G., Martinsen, V., Shitumbanuma, V., Alling, V., Breedveld, G. D., Rutherford, D. W., Sparrevik, M., Hale, S. E., Obia, A., & Mulder, J. (2013). Biochar effect on maize yield and soil characteristics in five conservation farming sites in Zambia. *Agronomy*, 3(2), 256-274. <https://doi.org/10.3390/agronomy3020256>.
- Corwin, D. L., & Rhoades, J. D. (1984). Measurement of inverted electrical conductivity profiles using electromagnetic induction. *Soil Science Society of America Journal*, 48(2), 288-291. <https://doi.org/10.2136/sssaj1984.03615995004800020011x>.

- Demir, H., Kaman, H., Sonmez, I., Mohamoud, S. S., Polat, E., & Ucok, Z. (2022). Yield, quality and plant nutrient contents of lettuce under different deficit irrigation conditions. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 21(1), 115-129. <https://doi.org/10.24326/asphc.2022.1.10>.
- Egamberdieva, D., Reckling, M., & Wirth, S. (2017). Biochar-based Bradyrhizobium inoculum improves growth of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) under drought stress. *European Journal of Soil Biology*, 78, 38-42. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.11.007>.
- Gee, G. W., & Bauder, J. W., (1986). Particle size analysis. In: A. L. Page, M. H. Miller & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis* (pp. 338-411). America and Soil Science Society, Madison.
- Girones, R., Ferrús, M. A., Alonso, J. L., Rodriguez-Manzano, J., Calgua, B., de Abreu Corrêa, A., Hundesa, A., Carratala, A., & Bofill-Mas, S. (2010). Molecular detection of pathogens in water—the pros and cons of molecular techniques. *Water Research*, 44(15), 4325-4339. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.06.030>.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., & Toulmin, C. (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327(5967), 812-818. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>.
- Gul, S., & Whalen, J. K. (2016). Biochemical cycling of nitrogen and phosphorus in biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.001>.
- Hossain, M. Z., Bahar, M. M., Sarkar, B., Donne, S. W., Ok, Y. S., Palansooriya, K. N., Kirkham, M. B., Chowdhury, S., & Bolan, N. (2020). Biochar and its importance on nutrient dynamics in soil and plant. *Biochar*, 2, 379-420. <https://doi.org/10.1007/s42773-020-00065-z>.
- Jamei, R., Heidari, R., Khara, J., & Zare, S. (2009). Hypoxia induced changes in the lipid peroxidation, membrane permeability, reactive oxygen species generation, and antioxidative response systems *Zea mays* leaves. *Turkish Journal of Biology*, 33(1), 45-52. <https://doi.org/10.3906/biy-0807-14>.
- Kalra, Y. (1997). Handbook of reference methods for plant analysis. CRC press.
- Kang, S., Hao, X., Du, T., Tong, L., Su, X., Lu, H., Li, X., Huo, Z., Li, S., & Ding, R. (2017). Improving agricultural water productivity to ensure food security in China under changing environment: From research to practice. *Agricultural Water Management*, 179, 5-17. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.05.007>.
- Karabay, U., Toptas, A., Yanik, J., & Aktas, L. (2021). Does biochar alleviate salt stress impact on growth of salt-sensitive crop common bean. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52(5), 456-469. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1862146>.
- Karipcin, M. Z., & Satir, N. Y. (2016). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth and nutrient uptake of lettuce (*Lactuca sativa*) under water stress. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 26(3), 406-413.
- Katerji, N., Van Hoorn, J. W., Hamdy, A., & Mastrorilli, M. (2004). Comparison of corn yield response to plant water stress caused by salinity and by drought. *Agricultural Water Management*, 65(2), 95-101. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2003.08.001>.
- Kiran, S., Ozkay, F., Ellialtioglu, S., & Kusvuran, S. (2014). Studies on some physiological changes of drought stress applied melon genotypes. *Soil Water Journal*, 3(1), 53-58. <https://doi.org/10.21657/tsd.67125>.
- Laghari, M., Naidu, R., Xiao, B., Hu, Z., Mirjat, M. S., Hu, M., Kandhro, M. N., Chen, Z., Guo, D., Jogi, Q., Abudi, Z. N. & Fazal, S. (2016). Recent developments in biochar as an effective tool for agricultural soil management: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(15), 4840-4849. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7753>.
- Li, H., Dong, X., da Silva, E. B., de Oliveira, L. M., Chen, Y., & Ma, L. Q. (2017). Mechanisms of metal sorption by biochars: biochar characteristics and modifications. *Chemosphere*, 178, 466-478. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.072>.
- Lyu, S., Du, G., Liu, Z., Zhao, L., & Lyu, D. (2016). Effects of biochar on photosystem function and activities of protective enzymes in *Pyrus ussuriensis* Maxim. under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2236-1>.
- Mancosu, N., Snyder, R. L., Kyriakakis, G., & Spano, D. (2015). Water scarcity and future challenges for food production. *Water*, 7, 975-992. <https://doi.org/10.3390/w7030975>.
- Mandal, S., Pu, S., Adhikari, S., Ma, H., Kim, D. H., Bai, Y., & Hou, D. (2021). Progress and future prospects in biochar composites: Application and reflection in the soil environment. *Critical Reviews Environmental Science and Technology*, 51(3), 219-271. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1713030>.
- Marcińska, I., Czyczyło-Mysza, I., Skrzypek, E., Filek, M., Grzesiak, S., Grzesiak, M. T., Janowiak, F., Hura, T., Dziurka, M., Dziurka, K., Nowakowska, A., & Quarrie, S. A. (2013). Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 451-461. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1088-6>.
- McLean, E. O. (1982). Soil pH and lime requirement. In: A. L. Page, M. H. Miller & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis* (pp. 199-224). America and Soil Science Society, Madison.

- Montenegro, M., Silva, A. Z., & Pedraza, R. O. (2011). Effect of water availability on physiological performance and lettuce crop yield (*Lactuca sativa*). *Ciencia E Investigación Agraria*, 38(1), 65-74.
- Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., & Gibon, Y. (2011). Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 1715-1729. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq438>.
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: A. L. Page, M. H. Miller & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis* (pp. 539-577). America and Soil Science Society, Madison.
- Nguyen, T. T. N., Xu, C. Y., Tahmasbian, I., Che, R., Xu, Z., Zhou, X., Wallace, H. M., & Bai, S. H. (2017). Effects of biochar on soil available inorganic nitrogen: a review and meta-analysis. *Geoderma*, 288, 79-96. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.11.004>.
- Ors, S., & Ekinçi, M. (2015). Drought stress and plant physiology. *Derim*, 32(2), 237-250.
- Oukaltouma, K., El Moukhtari, A., Lahrizi, Y., Makoudi, B., Mouradi, M., Farissi, M., Willems, A., Qaddoury, A., Bekkaoui, F., & Ghoulam, C. (2022). Physiological, biochemical and morphological tolerance mechanisms of faba bean (*Vicia faba* L.) to the combined stress of water deficit and phosphorus limitation. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(2), 1632-1646. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00759-2>.
- Purakayastha, T. J., Bera, T., Bhaduri, D., Sarkar, B., Mandal, S., Wade, P., Kumari, S., Biswas, S., Menon, M., Pathak, H., & Tsang, D. C. (2019). A review on biochar modulated soil condition improvements and nutrient dynamics concerning crop yields: Pathways to climate change mitigation and global food security. *Chemosphere*, 227, 345-365. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.170>.
- Pushnik, J. C., Miller, G. W., & Manwaring, J. H. (1984). The role of iron in higher plant chlorophyll biosynthesis, maintenance and chloroplast biogenesis. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5), 733-758. <https://doi.org/10.1080/01904168409363238>.
- Qianqian, M., Haider, F. U., Farooq, M., Adeel, M., Shakoor, N., Jun, W., Jiaying X., Wang, X. W., Panjun, L., & Cai, L. (2022). Selenium treated Foliage and biochar treated soil for improved lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth in Cd-polluted soil. *Journal of Cleaner Production*, 335, 130267. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.130267>.
- Razzaghi, F., Obour, P. B., & Arthur, E. (2020). Does biochar improve soil water retention? A systematic review and meta-analysis. *Geoderma*, 361, 114055. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114055>.
- Sabatino, L., Iapichino, G., Mauro, R. P., Consentino, B. B., & De Pasquale, C. (2020). Poplar biochar as an alternative substrate for curly endive cultivated in a soilless system. *Applied Sciences*, 10(4), 1258. <https://doi.org/10.3390/app10041258>.
- Schiermeier, Q. (2014). Water on tap. *Nature*, 510, 326-328. <https://doi.org/10.1038/510326a>.
- Semida, W. M., Beheiry, H. R., Sétamou, M., Simpson, C. R., Abd El-Mageed, T. A., Rady, M. M., & Nelson, S. D. (2019). Biochar implications for sustainable agriculture and environment: A review. *South African Journal of Botany*, 127, 333-347. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.11.015>.
- Senyigit, U., & Kaplan, D. (2013). Impact of different irrigation water levels on yield and some quality parameters of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. Longifolia cv.) under unheated greenhouse condition. *Infrastructure and Ecology of Rural Areas*, 2, 97-107.
- Smart, R. E., & Barrs, H. D. (1973). The effect of environment and irrigation interval on leaf water potential of four horticultural species. *Agricultural Meteorology*, 12, 337-346. [https://doi.org/10.1016/0002-1571\(73\)90030-7](https://doi.org/10.1016/0002-1571(73)90030-7).
- Tanure, M. M. C., da Costa, L. M., Huiz, H. A., Fernandes, R. B. A., Cecon, P. R., Junior, J. D. P., & da Luz, J. M. R. (2019). Soil water retention, physiological characteristics, and growth of maize plants in response to biochar application to soil. *Soil and Tillage Research*, 192, 164-173. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.05.007>.
- TUIK. (2023). Agriculture Statistics. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> [Access date: February 5, 2023].
- Yang, A., Akhtar, S. S., Li, L., Fu, Q., Li, Q., Naeem, M. A., He, X., Zhang, Z., & Jacobsen, S. E. (2020). Biochar mitigates combined effects of drought and salinity stress in quinoa. *Agronomy*, 10(6), 912. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060912>.
- Yazdic, M., & Degirmenci, H. (2018). Effect on leaf water potential and chlorophyll value of different irrigation levels in cotton. *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 21(4), 511-519.
- Yazgan, S., Ayas, S., Demirtas, C., Buyuukcangaz, H., & Candogan, B. N. (2008). Deficit irrigation effects on lettuce (*Lactuca sativa* var. *Olenka*) yield in unheated greenhouse condition. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6, 357-361.
- Yildirim, E., Ekinçi, M., & Turan, M. (2021). Impact of biochar in mitigating the negative effect of drought stress on cabbage seedlings. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(3), 2297-2309. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00522-z>

- Yildirim, E., Ekinici, M., Turan, M., Agar, G., Ors, S., Dursun, A., Kul, R., & Akgul, G. (2022). Physiological and biochemical changes of pepper cultivars under combined salt and drought stress. *Gesunde Pflanzen*, 74(3), 675-683. <https://doi.org/10.1007/s10343-022-00642-1>.
- Yue, Y., Guo, W. N., Lin, Q. M., Li, G. T., & Zhao, X. R. (2016). Improving salt leaching in a simulated saline soil column by three biochars derived from rice straw (*Oryza sativa* L.), sunflower straw (*Helianthus annuus*), and cow manure. *Journal of Soil and Water Conservation*, 71(6), 467-475. <https://doi.org/10.2489/jswc.71.6.467>.
- Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., & Xing, B. (2017). Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: a review. *Environmental Pollution*, 227, 98-115. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.032>.



Rainwater Harvesting and System Design in Livestock Farms

Hayvancılık İşletmelerinde Yağmur Suyu Hasadı ve Sistem Tasarımı

Umut Kılıç¹ Büşra Yaylı² İlker Kılıç³ 

Received: 10.03.2023

Accepted: 03.07.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: The most critical threat that global warming poses is undoubtedly water scarcity. Especially in the agricultural sector, water is an indispensable component. Therefore, it is essential to develop alternative water resources and methods against water scarcity that threatens our future. In this study, rainwater harvesting potentials on the roofs of livestock barns were determined, and system designs were made. The study was carried out at Bursa Uludağ University Faculty of Veterinary Medicine Animal Health and Animal Production, Research and Application Center. According to the study results, the most rainwater was harvested in December, and the least was harvested in August. While the required water requirement in the examined poultry farms can be supplied at 71.5% in December, 13.3% can be completed in August. In the sheep farms, 90.4% of the need can be supplied with 216.9 m³ of water collected in December, while water can be transferred to other months. While it is possible to supply 57.4% of the cattle in the winter months, this rate drops to 16.4% in the summer months. In dairy cattle farms, on the other hand, while the need can be supplied in winter with rainwater harvesting, the requirement can be supplied by storing the existing water and transferring it to different periods. Rainwater harvesting systems designed for livestock farms can pay for themselves in 7 years at the latest.

Keywords: Bursa, depreciation period, livestock, storage design, rainwater

&

Öz: Küresel ısınmanın dünyamızda oluşturduğu en önemli tehdit şüphesiz ki su kıtlığıdır. Özellikle tarım sektöründe su vazgeçilemez bir bileşendir. Bundan dolayı geleceğimizi tehdit altına alan su kıtlığına karşı alternatif su kaynakları ve yöntemleri geliştirmek çok önemlidir. Bu çalışmada, hayvan barınaklarının çatılarından yağmur suyu hasadı potansiyelleri belirlenmiş ve sistem tasarımları yapılmıştır. Çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim, Araştırma ve Uygulama Merkezinde yürütülmüştür. Çalışma sonucuna göre, işletmelerin genelinde Aralık ayında en fazla, Ağustos ayında ise en az yağmur suyu hasadı yapılmıştır. İncelenen kümes işletmelerinde Aralık ayında gerekli su ihtiyacı %71.5 oranında karşılanabiliyorken, Ağustos ayında %13.3'ü karşılanabilmektedir. Koyun işletmesinde ise Aralık ayında toplanan 216.9 m³ su ile ihtiyacın %90.4'ü karşılanabiliyorken diğer aylara da su transferi yapılabilmektedir. Besi sığırları işletmesinde kış aylarında %57.4'ünü karşılamak mümkün iken yaz aylarında bu oran %16.4'e kadar düşmektedir. Süt sığırları işletmelerinde ise yağmur suyu hasadı ile kış aylarında ihtiyacın tamamı karşılanabilirken var olan suyun depolanarak diğer dönemlere de aktarılmasıyla ihtiyacı giderebilmektedir. İşletmeler için tasarlanan yağmur suyu hasadı sistemleri ise en geç 7 yılda kendini amorti edebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bursa, amortisman süresi, çiftlik hayvanları, depolama tasarımı, yağmur suyu

Cite as: Kılıç, U., Yaylı, B. & Kılıç, İ. (2023). Rainwater Harvesting and System Design in Livestock Farms. International Journal of Agriculture and Wildlife Science, 9(2),218-228. DOI: 10.24180/ijaws.1263235

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ MSc Student Umut KILIÇ, Bursa Uludağ University, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Biosystems Engineering, 502029012@ogr.uludag.edu.tr

² Res. Assist. Büşra YAYLI, Bursa Uludağ University, Department of Biosystems Engineering, busrayayli@uludag.edu.tr (Sorumlu Yazar / Corresponding author)

³ Prof. Dr. İlker KILIÇ, Bursa Uludağ University, Department of Biosystems Engineering, ikilic@uludag.edu.tr

INTRODUCTION

In recent years, global warming's severity has increased considerably and seriously threatens our future. It is seen that this situation increases the need for water in factors such as increasing population, industrialization, and food supply, but it gradually decreases the power to provide it. Water is the most essential need for living things to survive. It constitutes 2/3 of the human body and is vital for physical and psychological health. Although the human body can survive for a long time without food, it can only survive 3-5 days without water (Akin and Akin, 2005). The importance of water for people is not only a necessity for their health, but it is also vital for them to continue their lives in daily life. Although water is used in many different areas such as cleaning, food, textile, and energy production in daily life, besides industry, the most consumer of water in our country is the agriculture sector, with a rate of 70% (Aydın, 2019).

While water is essential for all living things, it also has particular importance for animals. The hardness, quality, and amount of water to be used in the care of animals must be in the appropriate ratio. In addition, the animal's environmental conditions and physical and physiological characteristics should be considered in water consumption. In cases where the animals are not given water of sufficient quality and quantity, it causes them to become ill, reduces their feed consumption, and decreases the yield. For this reason, inadequate water and faulty methods cause health problems in animals, and they also cause economic damage to the enterprise.

Only 3.5% of the total water in the world is usable. The fact that resources are depleted or become unusable daily poses a severe threat to the next generation. The increasing human population, damages caused by domestic and industrial wastes in existing water resources, and current political and environmental problems cause rapid depletion and pollution of water resources. One of the methods that can be applied to prevent water shortages and water scarcity problems that may occur in the future is to reuse the used, dirty water by treating it. However, this creates very high costs. Because of this situation, it becomes necessary to turn to alternative water recovery methods.

Rainwater harvesting as an alternative water recovery method has become more important recently. While only 30% of the precipitation in the world is mixed with groundwater, the remaining significant amount of rainfall cannot be used and is lost. Thanks to the rainwater harvesting method applied in buildings, a significant amount of lost rainwater can be stored. The stored water can be used as drinking water and using water in houses and operations and water savings can be achieved. To obtain maximum efficiency from rainwater harvesting, it is necessary to pay attention to the precipitation characteristics of the place where the system will be installed, how much water the system can provide, and the initial costs (Üstün et al., 2020). At the same time, the warehouse selection should be made according to the seasonal precipitation scale of the region where the system will be installed. It should have the capacity to store rainwater during the periods when the precipitation is the highest, and it should be able to be used during periods when the rainfall is low (Çaylı, 2021).

This study determined the rainwater harvesting capacity of the livestock farms in Bursa Uludağ University Faculty of Veterinary Medicine, Animal Health and Animal Production, Research and Application Center, and the system design was created. The payback period of this system and the possible water savings are evaluated.

MATERIAL AND METHOD

Study Area

The study was carried out at Bursa Uludağ University Faculty of Veterinary Medicine Animal Health and Animal Production, Research and Application Center. The study aims to determine the amount of water that can be saved by selecting the ratio of the water obtained by rainwater harvesting method in the beef cattle, dairy cattle, sheep barn, and poultry roofs in the application center to supply the water needed in the livestock farms. Since the livestock farms examined in the study are far from each other, all the farms were evaluated, and a separate calculation and design were carried out for each.

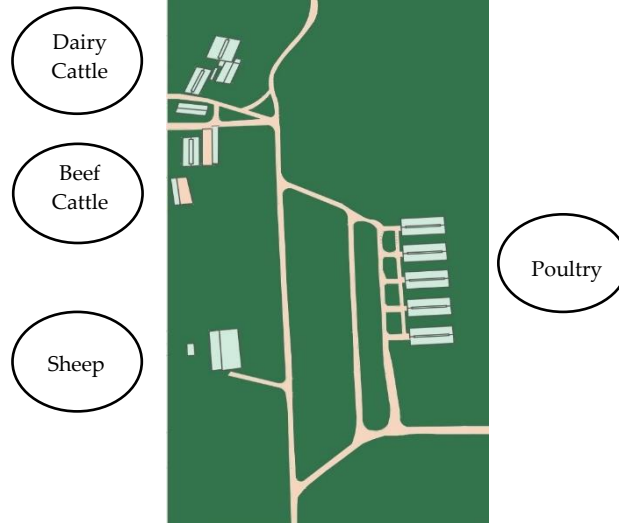


Figure 1. Top view of the research center where the study was conducted.
 Şekil 1. Çalışmanın yürütüldüğü araştırma merkezinin üst görünüşü.

The dimensions of the barns examined in the study were obtained by visiting the farms and making measurements in the barns with the help of a laser meter (Extech DT300, USA) (Figure 2). In the dimensions, the areas of the roofs were calculated by measuring the barns' length, width, and ridge height. The calculated roof areas are 3359 m², 1145 m², 1336 m² and 2720 m² for poultry, sheep, beef, and dairy cattle processing, respectively. Since five houses belong to the poultry farm, the maximum roof area is calculated for the poultry farm. The sheep barn is the farm with the smallest roof area.



Figure 2. Extech DT300 Laser meter.
 Şekil 2. Extech DT300 Lazermetre.

Rainwater Harvest Calculation

In the study, Equation (1) was used for rainwater harvest calculations of livestock farms (TEMA, 2017; Yalılı Kılıç and Abuş, 2018; Temizkan and Kayılı, 2021; Çakar, 2022).

$$\text{Rainwater Harvest} = A \times P \times RC \times FEC \quad (1)$$

A: Roof area of buildings to be harvested (m²)

P: Precipitation (L m⁻²)

RC: It is the roof coefficient that indicates that all precipitation reaching the roof cannot be reused. It is the coefficient specified by German standards as 0.8 in DIN1989.

FEC: It is the efficiency coefficient of the first filter passed to separate the rainwater collected from the roof from the visible solids. It is a coefficient given by calculating that not all water can pass through here. It is specified as 0.9 in DIN1989.

Monthly precipitation amounts (P) for Bursa were obtained from the official website of the General Directorate of Meteorology (MGM, 2021). Rainfall averages of the last thirty years of precipitation are taken into account.

In the study, the amount of water that can be harvested with the rainwater harvesting system to be installed on the roofs of the barns was compared with the water requirement of the enterprise. The daily drinking and potable water needs of livestock are given in Table 1 (Chapagain and Hoekstra, 2003). According to the rate of meeting the water requirement, the financial gain and water savings provided by the system were calculated using the Bursa Metropolitan Municipality's water charge tariff. Appropriate rain harvesting system designs were made for the livestock enterprises examined in the study.

Table 1. Daily water consumption required for livestock.

Çizelge 1. Hayvanlar için gerekli günlük su tüketimleri.

Livestock	Drinking water consumption of livestock (liter head ⁻¹ day ⁻¹)	Amount of water used for livestock (liter head ⁻¹ day ⁻¹)
Beef cattle	38	11
Calf	(5-23) 14	0
Dairy cattle	70	22
Goat	3.79	5
Sheep	7.57	5
Poultry	0.3	0.15*

* It is half of the daily water consumption requirement of chickens.

RESULTS AND DISCUSSION

Water Consumption in Livestock Farms

According to the species of animals, their need for water and their sensitivity may differ. Cows' body consists of 56% water; they need 3-4 liters of water to produce 1 liter of milk. Therefore, water consumption in cows is high. Otherwise, lack of water in cows causes health and mental problems such as decreased feed consumption, reduced productivity, and more nervous behavior of livestock (Göncü et al., 2008). Poultry, on the other hand, consists of 70% of their body water, and they consume twice as much water as the feed they consume. Water facilitates the digestion of poultry, the work of their joints, and their blood circulation (Anonymous, 2019). In addition to using drinking water in animal breeding, domestic water for animal care and the barn constitute an essential part of water consumption. The livestock's daily total water consumption needs are given in Table 2, considering the number of farm animals and the everyday drinking and domestic water needs of the livestock.

Table 2. Daily water consumption of the livestock in the monitored farms.

Çizelge 2. İncelenen işletmelerdeki hayvanların günlük su tüketimi.

Livestock		Daily Drinking Water Consumption (liter day ⁻¹)	Daily Consumption of Water Used for Animals (liter day ⁻¹)	Total Water Consumption (liter day ⁻¹)
Species	Number			
Beef cattle	100	3800	1100	4900
Calf	12	168	0	168
Dairy cattle	52	3640	1144	4784
Goat	65	246.35	325	571.35
Sheep	125	946.25	625	1571.25
Poultry	25000	7500	3750	11250

Rainwater Harvest Amount of Monitored Farms

There are five poultry hens, three beef and dairy cattle barns and three sheep barns in the farm yard where the study was carried out. In the study, calculations related to rainwater harvesting of the roof areas of all barns were made.

There are 25 thousand chickens in total, 5000 in each of the five chicken coops in the farm. Since each house has a large roof area, there is the potential to harvest a significant amount of water from five house roofs. The highest amount of water gathered in the henhouses was calculated as 241.3 m³ in December when the rainfall was the most, while the lowest water harvest was realized with 44.9 m³ in August when the rain was the least (Table 3).

There are three barns in the sheep farm where rainwater harvesting can be done. According to the rainwater harvest calculation made in the barns, the highest water harvest will be realized in December with 82.2 m³, and the minor water harvest will be recognised in August with 15.3 m³ (Table 3).

Rainwater harvesting is planned in seven barns on the dairy cattle farm. Due to the high number of buildings in the enterprise and the data obtained from the General Directorate of Meteorology, a high amount of rainwater can be collected in the Bursa region due to the high average precipitation in winter. While the most water is collected in December, with 195.4 m³, the least is collected, with 30.4 m³ in summer (Table 4).

Table 3. Amount of water to be collected monthly and seasonally in poultry houses and sheep farms.

Çizelge 3. Tavuk ve koyun işletmelerinde aylık ve mevsimsel toplanacak su miktarları.

Months	Poultry	Sheep	Seasons	Poultry	Sheep
	Amount of rainwater collected on the roof (m ³)	Amount of rainwater collected on the roof (m ³)		Amount of rainwater collected on the roof (m ³)	Amount of rainwater collected on the roof (m ³)
December	241.3	82.2	Winter	636.9	216.9
January	212.3	72.3			
February	183.3	62.4			
March	168.3	57.3	Spring	441.5	150.4
April	149.7	51			
May	123.5	42.1			
June	83.1	28.3	Summer	181.9	61.9
July	53.9	18.3			
August	44.9	15.3			
September	106.6	36.3	Autumn	453.1	154.3
October	161.3	54.9			
November	185.2	63.1			

Due to the high number of chickens in the poultry houses, monthly water consumption is high (337.5 m³). However, since the amount of harvested water is high, most needs can be supplied, especially in winter. While 71.5% of the required water need can be supplied with the rainwater harvested in December, 13.3% of the necessary condition can be provided in August, when the little water is collected (Table 5-6).

The monthly water requirement for the animals in the sheep farm is 64.4 m³. More water can be harvested than the amount of water needed, especially in winter. While the required water need can be supplied with 216.9 m³ in winter, water transfer can be provided in the following months. Thus, even though water is harvested much lower than the need in the spring months, 90.4% of the total market can be supplied. In summer, there is a potential to supply 32% of the required need (Table 5-6).

Table 4. Amounts of water to be collected monthly and seasonally in dairy cattle and beef cattle farms.*Çizelge 4. Süt sığırı ve besi sığırı işletmelerinde aylık ve mevsimsel toplanacak su miktarları.*

Months	Dairy Cattle	Beef Cattle	Seasons	Dairy Cattle	Beef Cattle
	Amount of rainwater collected on the roof (m ³)	Amount of rainwater collected on the roof (m ³)		Amount of rainwater collected on the roof (m ³)	Amount of rainwater collected on the roof (m ³)
December	195.4	96	Winter	515.8	253.4
January	171.9	84.5			
February	148.4	72.9			
March	136.3	66.9	Spring	357.6	175.5
April	121.2	59.5			
May	100	49.1			
June	67.3	33.1	Summer	134.1	72.4
July	36.4	21.4			
August	30.4	17.9			
September	72	42.4	Autumn	306.2	180.3
October	109	64.2			
November	125.2	73.7			

The average water requirement for the animals in the beef cattle farm is 147 m³ per month. The water consumption in beef cattle is high. However, less water can be harvested due to the small number of barns with closed areas on the farm and the small roof areas of the closed barns. For this reason, while it is possible to supply 57.4% of the average water need in winter, this rate drops to 16.4% in summer (Table 5-6).

Table 5. The rate of supplying the monthly water needs of the livestock farms with rainwater harvesting.*Çizelge 5. İşletmelerde aylık su ihtiyaçlarının yağmur suyu hasadı ile karşılanma oranı.*

Months	Poultry		Sheep		Beef cattle		Dairy cattle	
	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)
December	241.3	71.5	82.2	100	96	65.3	195.4	100
January	212.3	62.9	72.3	100	84.5	57.5	171.9	100
February	183.3	54.3	62.4	100	72.9	49.6	148.4	100
March	168.3	49.8	57.3	100	66.9	45.5	136.3	100
April	149.7	44.3	51	100	59.5	40.5	121.2	100
May	123.5	36.5	42.1	72	49.1	33.4	100	88
June	83.1	24.6	28.3	44	33.1	22.5	67.3	45.3
July	53.9	15.9	18.3	28.5	21.4	15.6	36.4	24.5
August	44.9	13.3	15.3	23.8	17.9	12.2	30.4	20.5
September	106.6	31.5	36.3	56.5	42.4	28.9	72	48.5
October	161.3	47.8	54.9	85.4	64.2	43.7	109	73.4
November	185.2	54.9	63.1	98.1	73.7	50.1	125.2	84.3

In dairy cattle farms the monthly average water requirement is 147.5 m³ and the seasonal average is 445.5 m³. The fact that there are many closed barns in the farm ensures a high rate of water harvesting. This situation can supply all the average water needs in the spring months due to providing all the requirements for the operation in the winter months and transferring the excess water to be stored in the following months. The water harvest to be carried out on the farm is very important in terms of cost and in terms of providing water savings (Table 5-6).

Table 6. Rates of supplying seasonal water needs with rainwater harvesting in farms.

Çizelge 6. İşletmelerde mevsimsel su ihtiyaçlarının yağmur suyu hasadı ile karşılanma oranı.

Seasons	Poultry		Sheep		Beef cattle		Dairy cattle	
	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)	Amount rainwater collected (m ³)	Absorption rate (%)
Winter	636.9	62.9	216.9	100	253.4	57.4	515.7	100
Spring	441.5	43.6	150.4	90.4	175.5	36.8	357.6	96
Summer	181.9	17.9	61.9	32	72.4	16.4	134.1	30
Autumn	453.1	44.7	154.3	80	180.3	40.9	306.2	68.7

Design of Rainwater Harvesting System in Monitored Livestock Farms

A rainwater collection system has been designed for the farms examined to save both water and the economy at the maximum level and to collect and benefit from the precipitation falling in the region at the top level.

The galvanized steel water tank with a total capacity of 250 tons supplies the amount of rain in the poultry farm examined in the study (Figure 3). In case of more precipitation than expected in the water tank used in the system or claim of a systemic problem, two discharge pipes from the pipeline and the tank are added to the system to drain the excess water. In the system, it is planned that the rainwater collection line will pass above the ground surface, and the tanks will be buried under the surface. The preference for underground buried tanks was planned as underground storage systems due to the advantages such as space-saving, water can be filled into the tank by its gravity, the possibility of mossiness is reduced due to low light transmittance, maintenance is easy, and the case of damage is lower.

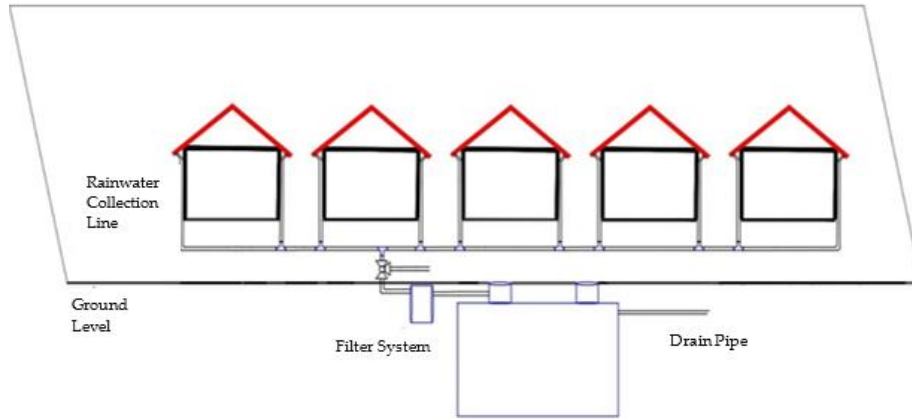


Figure 3. Rainwater harvesting system design of poultry houses.

Şekil 3. Tavuk işletmesi yağmur suyu hasadı sistem tasarımı.

It is planned to use a galvanized steel water tank with a capacity of 85 tons for the systematic design to supply the amount of rain that will fall in the examined sheep farm. The system design is given in Figure 4.

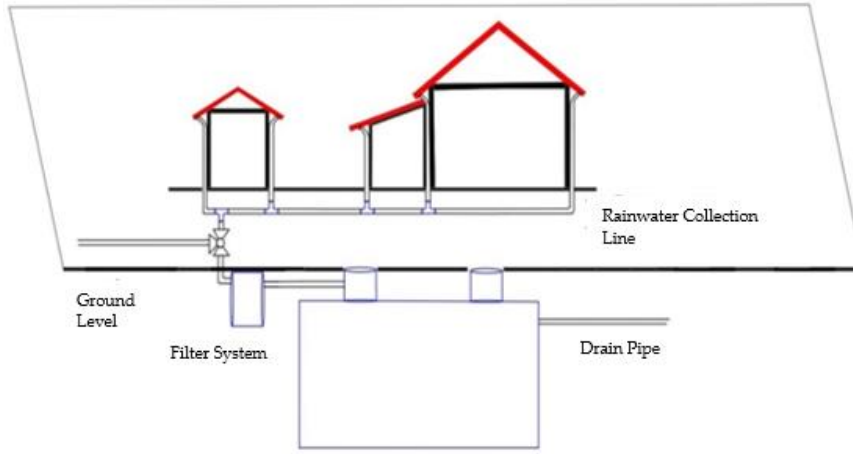


Figure 4. Sheep farm rainwater harvest design.

Şekil 4. Koyun işletmesi yağmur hasadı tasarımı.

Considering the amount of water that can be harvested in the farm, the cost, and the required water requirement while designing the rainwater harvesting system and choosing the tank for the beef cattle farms, the use of a galvanized steel water tank with a capacity of 100 tons in both farms supplies they need (Figure 5).

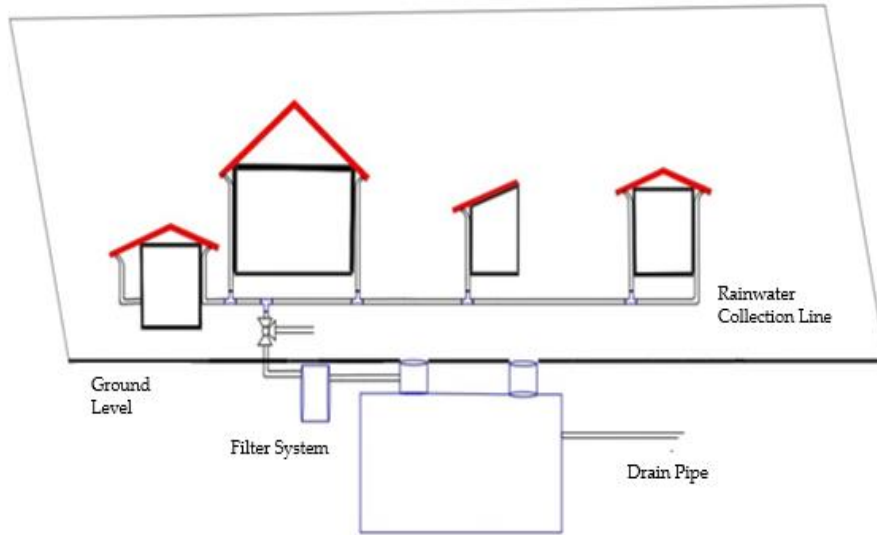


Figure 5. Beef cattle farm rainwater harvest design.

Şekil 5. Besi sığıru işletmesi yağmur hasadı tasarımı.

The dairy cattle farm decided to use a galvanized steel water tank with a total capacity of 200 tons due to the high potential of water to be harvested (Figure 6).

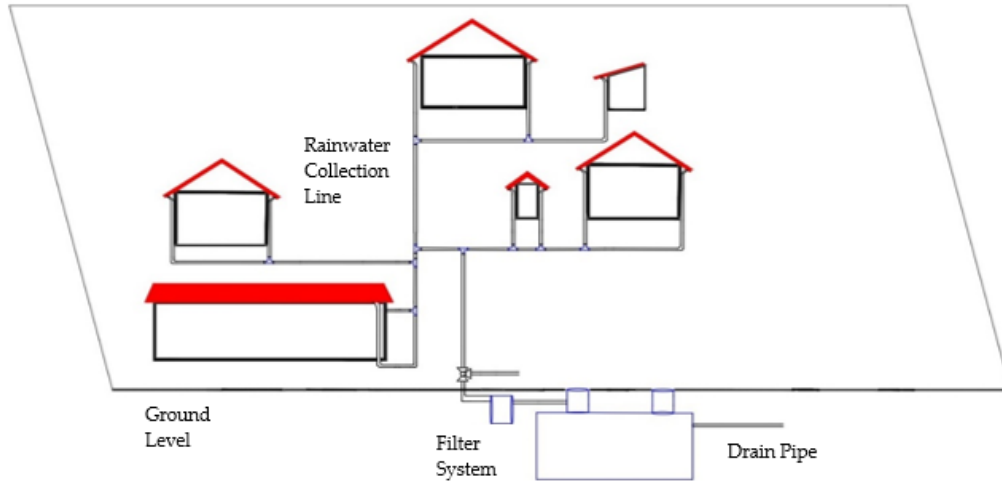


Figure 6. Dairy farm rainwater harvest design.
 Şekil 6. Süt sığırtı işletmesi yağmur hasadı tasarımı.

The costs of the material list required for installing the rainwater harvesting system in the farms are given in Table 7 in detail.

Table 7. List of materials required for the installation of rainwater harvesting system in farms.

Çizelge 7. İşletmelerde yağmur suyu hasadı sisteminin kurulumu için gerekli malzeme listesi.

		1	2	3	4	5	6	7
Poultry houses	Material	Galvanized steel warehouse with a volume of 250 tons	Transport and installation costs	T Pipe	Pipe bend	11 Ø Pipe	Filter	Three directional Valve
	Piece	1	1	9	2	150 m	1	1
	Price	142500 ₺	71485 ₺	360 ₺	50 ₺	2443 ₺	18450 ₺	2500 ₺
Sheep farms	Material	Galvanized steel warehouse with a volume of 85 tons	Transport and installation costs	T Pipe	Pipe bend	11 Ø Pipe	Filter	Three directional Valve
	Piece	1	1	4	2	75 m	1	1
	Price	48450 ₺	24250 ₺	160 ₺	50 ₺	1221.5 ₺	9340 ₺	2500 ₺
Cattle farms	Material	Galvanized steel warehouse with a volume of 100 tons	Transport and installation costs	T Pipe	Pipe bend	11 Ø Pipe	Filter	Three directional Valve
	Piece	1	1	5	3	75 m	1	1
	Price	57000 ₺	28500 ₺	200 ₺	75 ₺	1221.5 ₺	9340 ₺	2500 ₺
Dairy cattle farms	Material	200 tons galvanized steel warehouse	Transport and installation costs	T Pipe	Pipe bend	11 Ø Pipe	Filter	Three directional Valve
	Piece	1	1	10	8	120 m	1	1
	Price	114000 ₺	57000 ₺	400 ₺	200 ₺	1954.4 ₺	18450 ₺	2500 ₺

Savings Rate with Rainwater Harvesting

With the application of the rainwater harvesting system in the henhouses, an economic saving of 5047.6 TL was achieved in December, when the most water harvest was carried out, and 939.2 TL in August, when the minor water harvest was performed (Table 8). Due to the many buildings and the large roof areas, the chicken farm has the highest annual water harvest, with a total of 636.9 m³ and the most financial savings, with a yearly average of 37 846 TL.

Table 8. Monthly and annual profit rates (TL) obtained by rainwater harvesting systems in the monitored farms.*Çizelge 8. İncelenen işletmelerde yağmur suyu hasadı sistemi ile elde edilen aylık ve yıllık kar oranları (TL).*

Month	Poultry	Sheep	Dairy cattle	Beef cattle
December	5047.6	1350	3334.1	2007.9
January	4441	1350	3334.1	1767.5
February	3834	1350	3334.1	1524.8
March	3525.7	1350	3334.1	1399.3
April	3131.5	1350	3334.1	1244
May	2583.4	974.8	2956.7	1027
June	1738	592	1630.4	692.3
July	1127.5	382	1422.9	447
August	939.2	320	858.5	374.3
September	2229.9	759	1728.5	886
October	3374.1	1153	2502.6	1342.9
November	3874	1319.7	2841.4	1541.5
Total Profit	37846	12250.5	30611.5	14254.5

While the absolute average water requirement for the livestock can be supplied for five months with the rainwater system in the sheep farm, a monthly average of 1350 TL is saved (Table 8). Even though most of the year's water needs are supplied on the farm, lower financial gain is achieved compared to other farms due to the low amount of water used and harvested. The average annual income in the sheep farm is 12250.5 TL.

In the beef cattle farms, the highest savings were achieved with 2007.9 TL in December, while 374.3 TL was saved in August (Table 8). The average annual income is 14254.5 TL.

In dairy cattle farms, on the other hand, 3334.1 TL savings were achieved in the months when the need was fully supplied, while 374.3 TL savings were provided in August when the least amount of water was harvested (Table 8). In total, an average of 30611.5 TL is saved throughout the year.

With the implementation of the rainwater harvesting system in all farms located in the Animal Health and Animal Production, Research and Application Center of Bursa Uludag University Faculty of Veterinary Medicine, an annual average of 94962.5 TL financial savings is achieved. When a general evaluation is made, the system can amortize itself in 7 years at the latest (Table 9).

Table 9. Cost of rainwater harvesting system and payback period of the system.*Çizelge 9. Yağmur suyu hasadı sisteminin maliyeti ve sistemin amorti süresi.*

	Poultry	Sheep	Dairy cattle	Beef cattle
System Cost (₺)	237788	85971.5	98839	197000
Annual Earnings (₺)	37846	12250.5	14254.5	30611.5
Depreciation Period (years)	6.2	7	6.9	6.4

Yalılı Kılıç and Abuş, (2018) carried out a rainwater system design for a house with a garden in their study. The study planned to use a 14.5 m³ tank for gardening and other works, and 47% of the total water need was met by saving 102 m³ of water annually. Thus, an average of 335 TL was held annually.

Temizkan and Kayılı (2021), in their study, planned to provide some of the university's landscape irrigation needs by using the rainwater harvesting system, making use of the roof of the Karabük University Social Life Center. They calculated the cost of four different storage options for harvesting the water. As a result of the study, they stated that 2 766 m³ and 4% of the total water needed for rainwater harvesting and landscape irrigation were supplied and they provided an annual average of 11 644 TL financial savings.

CONCLUSION

As a result of the study carried out in the sheep, poultry, beef, and dairy cattle farms in the Animal Health and Animal Production, Research and Application Center of Bursa Uludag University Faculty of Veterinary Medicine, the roof areas of the buildings where rainwater harvesting is planned and the average

precipitation for Bursa province, using the average precipitation information the total rainwater to be stored amount has been calculated. As a result of the calculation, it has been seen that the water needs of the sheep and dairy cattle farms are supplied in the other months of the year, except for the summer months when the average water requirement is completed in the winter months when the precipitation is deficient. On the other hand, although the water harvest in the beef cattle farm is not at a high level the amount of water needed is not high because the number of animals is not very high, and most of the need can be supplied. The result of the study shows that the monitored livestock farms save half of their annual average water costs and save a significant amount of water. It has been revealed that the most savings in all farms can be realized in December, which has the highest precipitation. Considering that the world's water scarcity is increasing daily and the importance of water is increasing, it is seen that the amount of savings will contribute to the benefit of people and the environment.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declared no conflict interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

The authors contributed equally to the article.

REFERENCES

- Akın, G., & Akın, M. (2005). Suyun insan sağlığı için önemi ve su kirliliği. *Antropoloji*, 21. https://doi.org/10.1501/antro_0000000295.
- Anonymous. (2019). <http://uzmantavuk.net/220-tavuklarda-suyun-ve-su-onemi.html>. [Access date: November 16, 2022].
- Aydın, Y. (2019). Batman ili toprak ve su kaynaklarının tarımsal açıdan değerlendirilmesi. *Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29, 178-186. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.511801>.
- Çakar, H. (2022). İzmir ili koşullarında bahçeli bir sitenin yağmur suyu hasadı potansiyelinin değerlendirilmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 9, 446-452. <https://doi.org/10.30910/turkjans.1084095>.
- Çaylı, A. (2021). Kümeslerin su gereksinimini yağmur suyu hasadından karşılanması üzerine araştırma: Kahramanmaraş örneği. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 24, 1048-1058. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.838619>.
- Chapagain, A. K., & Hoekstra, A. Y. (2003). Virtual water flows between nations in relation to trade in livestock and livestock products, Value of water research report series No.13, UNESCO-IHE. <https://www.waterfootprint.org/media/downloads/Report13.pdf>.
- Göncü, S., Özkütük, K., & Görgülü, M. (2008). Sığır yetiştiriciliğinde su gereksinmesi ve içme suyu kalite özellikleri. *Hasad Dergisi*, 24, 44-51.
- Yalılı Kılıç, M., & Abuş, M. N. (2018). Bahçeli bir konut örneğinde yağmur suyu hasadı. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 4, 209-215. <https://doi.org/10.24180/ijaws.426795>.
- MGM. (2021). Cities & Holiday Resorts. <https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=BURSA>. [Access date: December 12, 2022].
- TEMA. (2017). <http://sutema.org>. [Access date: November 4, 2022].
- Temizkan, S., & Kayılı, M. T. (2021). Yağmur suyu toplama sistemlerinde optimum depolama yönteminin belirlenmesi: Karabük Üniversitesi sosyal yaşam merkezi örneği. *El-Cezeri*, 8, 102-116. <https://doi.org/10.31202/ecjse.778973>.
- Üstün, G. Ö., Can, T., & Küçük, G. (2020). Binalarda Yağmur Suyu Hasadı. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 25, 1593 – 1610. <https://doi.org/10.17482/uumfd.765561>.



Kuru ve Sulu Koşullarda Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinin Yağ Asidi Kompozisyonlarının Belirlenmesi*

Determination of Fatty Acid Compositions of Some Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cultivars in Dry and Wet Conditions

Vedat Beyyavaş¹ , Leyla Doğan² , Hasan Haliloğlu³ 

Geliş Tarihi (Received): 22.11.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 02.05.2023

Yayın Tarihi (Published): 21.08.2023

Öz: Bu araştırma, bazı aspir çeşitlerinin sulu ve kuru koşullarda yağ asidi kompozisyonunu belirlemek amacıyla 2019-2020, 2020-2021 yılları yetiştirme sezonlarında yürütülmüştür. Çalışma, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanında tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuştur. Araştırmada, ana parselleri sulu-kuru, alt parselleri ise çeşitler (Göktürk, Koç, Dinçer, Safir ve Balcı) oluşturmuştur. Çalışma sonucunda, doymuş ve doymamış yağ asitlerinden miristik asit (c14:0), palmitik asit (c16:0), palmitoleik asit (c16:1), stearik asit (c18:0), oleik asit (c18:1), linoleik asit (c18:2) ve araşidik asit (c20:0) oranları (%) olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda, sulama yapılan çeşitlerden kuru şartlarda yetiştirilen çeşitlere göre linoleik asit (c18:2) ve palmitik asit (c16:0) oranının daha fazla olduğu, ayrıca çalışmanın ikinci yılında linoleik asid'in birinci yıla göre daha fazla yağ asidi oluşturduğu saptanmıştır. Çalışmanın ikinci yılında doymamış yağ asidi toplam oranı (linoleik asit c18:2 + oleik asit c18:1) birinci yıla göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, yağlı bitkilerin yetiştirilmesinde, en önemli unsurlardan birisi olan yağ asitleri kompozisyonunun bilinmesi yağın kalite ve standardının belirlenmesine göre üretim yapılması uygun olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Aspir, çeşit, sulama, kuraklık, yağ asidi

&

Abstract: This research was carried out to determine the fatty acid composition of some safflower cultivars in wet and dry conditions in the growing seasons of 2019-2020, 2020-2021. The study was established in the experimental area of Harran University Faculty of Agriculture, Field Crops, in randomized blocks, in a split trial design with three replications. In the research, the main plots were wet-dry, and the sub-plots were varieties (Göktürk, Koç, Dinçer, Safir and Balcı). As a result of the study, myristic acid (c14:0), palmitic acid (c16:0), palmitoleic acid (c16:1) stearic acid (c18:0), oleic acid (c18:1), linoleic acid (c18:2) and arachidic acid (c20:0) ratios were determined. As a result of the study, it was determined that the linoleic acid (c18:2) and palmitic acid (c16:0) ratios were higher in the irrigated varieties than the varieties grown in dry conditions, and in the second year of the study, linoleic acid formed more fatty acids than in the first year. In the second year of the study, the total ratio of unsaturated fatty acids (linoleic acid c18:2 + oleic acid c18:1) was found to be higher than in the first year. As a result, it would be appropriate to know the composition of fatty acids, which is one of the most important elements in the cultivation of oily plants, and to produce according to the determination of the quality and standard of the oil.

Keywords: *Carthamus tinctorius* L., variety, irrigated, dry condition, fatty acid

Atıf/Cite as: Beyyavaş v., Doğan L., Haliloğlu H. (2023). Kuru ve Sulu Koşullarda Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinin Yağ Asidi Kompozisyonlarının Belirlenmesi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi. 9 (2), 229-238. doi: 10.24180/ijaws.1208463

İntihal-Plagiarizm/Etik-Ethic: Bu makale, en az iki hakem tarafından incelenmiş ve intihal içermediği, araştırma ve yayın etiğine uyulduğu teyit edilmiştir. / This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Doç. Dr. Vedat Beyyavaş, Harran Üniversitesi, Tarla Bitkileri Bölümü, vbeyyavas@harran.edu.tr (Sorumlu Yazar / Corresponding author)

² Leyla Doğan, Harran Üniversitesi, Tarla Bitkileri Bölümü, dgnleyla@gmail.com

³ Doç. Dr. Hasan Haliloğlu, Harran Üniversitesi, Tarla Bitkileri Bölümü, haliloglu@harran.edu.tr

GİRİŞ

Kış döneminde yetiştirilebilen önemli yağ bitkilerden biri olan aspir (*Carthamus tinctorius* L.) tek yıllık bir bitkidir (Eslam vd., 2010; Gürsoy vd., 2018). Aspir bitkisinin bütün kısımları Hindistan ve Pakistan gibi ülkelerde değişik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Nimbkar, 2002; Han vd., 2009). Çiçekleri gıda, kozmetik, boya ve ilaç gibi farklı endüstriyel alanlarda değerlendirilmektedir (Dajue ve Mundel, 1996; Abd El-Mohsen ve Mahmoud, 2013).

Dünyadaki aspir ekiliş alanı 816 bin ha, üretim miktarı 653 bin ton, verimi ise 800 kg ha⁻¹'dir. Kazakistan, Rusya, ABD, Meksika, Türkiye ve Hindistan gibi ülkeler dünyanın en önemli aspir üreticileri olarak bilinmektedir. Bu ülkeler dünyadaki aspir üretiminin %95'i kadarını karşılamaktadırlar (FAO, 2022). Bu bitkinin Türkiye'deki ekiliş alanı 14.59 bin ha olup üretim miktarı 16.20 bin ton, verimi ise 1.110 kg ha⁻¹'dir (TÜİK, 2022).

Aspir tohumlarında %13-46 arasında yağ bulunmakta (Dogan, 2021; Beyyavas ve Haliloglu, 2021), bu yağın yaklaşık %90'ı doymamış yağ asitlerinden (oleik ve linoleik asit) oluşmaktadır (Johnson vd., 1993; Belgin vd., 2007). Ayrıca antioksidan etkisi ve E vitamini değeri yüksek olan tokoferoller bulunmaktadır (Matthaus vd., 2015). Yüksek linoleik içeriğine sahip aspir yağı vücuttaki yağı ve iltihabı azaltmak, kötü kolesterolü düşürmek, kas sağlığını geliştirmek ve kalp sağlığını iyileştirmek için besin takviyesi olarak insan beslenmesinde kullanılır. Yüksek linoleik aspir yağı ayrıca cildi nemlendirmek, iltihaplanmayı azaltmak ve iyileşmeyi hızlandırmak için sabun, güneş kremleri, losyonlar, nemlendiriciler ve kozmetik ürünlerinde bir bileşen olarak kullanılır (Bergman ve Kandel, 2019).

Aspir çeşitlerinde yaklaşık olarak %6-8 palmitik asit, %2-3 stearik asit, %16-20 oleik asit ve %71-75 linoleik asit bulunmaktadır (Velasco ve Fernandez-Martinez, 2001). Bu oranların genotip çevre interaksiyonundan etkilendikleri birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Robertson vd., 1978; Matthaus vd., 2015; Coşge vd., 2016). Ayrıca çiçeklenme ve olgunlaşma arasında geçen sürede sıcaklığın yağ asitlerini etkileyen en önemli faktör olduğunu belirtmişlerdir (Lajara vd., 1990; Samancı ve Özkaynak, 2003). Yetiştirme istekleri bakımından seçici olmayan, diğer yağlı tohumlara göre kurağa ve düşük sıcaklıklara daha dayanıklı olup, özellikle kurak bölgelerde nadas alanlarında kullanılabilecek bitkilerden birisidir (Hussain vd., 2015; Emongor vd., 2015; Yeilaghi vd., 2015). Bu özelliklerinden dolayı kıraç alanlarda yetişen buğday, arpa, mercimek ve tütün gibi bitkilerle ekim nöbetine girerek ülkelerin bitkisel yağ açığının kapatılmasında oldukça önemli bir potansiyele sahip alternatif bir bitkidir (Eryiğit vd., 2015; Kose, 2017). Aspir bitkisinin sulama ile birlikte verim artışına sebep olduğu birçok çalışmada vurgulanmıştır (Dogan, 2021; Beyyavas ve Dogan, 2022).

Aspirden elde edilecek birim alandaki verim ve dolayısıyla yağ verimlerini artırmak için sulama büyük önem arz etmektedir. Genel olarak, yağlı tohumlar da dahil olmak üzere birçok mahsulün verimini ve kalitesini olumsuz etkileyen kuraklık stresi, bitki büyümesinde, fizyolojisinde ve metabolik aktivitelerinde değişiklikler yoluyla bitkileri etkilemektedir (Alqudah vd., 2011). Sulama rejimi, ekim zamanı, büyüme sıcaklıkları ve abiyotik streslerin de bitkisel yağın yağ içeriğini ve bileşimini değiştirebilmektedir (Bagheri vd., 2012). Genel olarak, generatif dönemde bitkiler vejetatif aşamaya göre kuraklığa daha duyarlıdır ve generatif dönemdeki kuraklık bitkilerdeki çiçek ve tabla sayısını azaltır, bu da tohum sayısında azalmaya yol açar (Pushpavalli vd., 2015). Bu da döllenmeyi, tohumun büyüme ve gelişmesini, dolayısıyla verimin azalmasına neden olmaktadır. Bazı araştırmacılar, farklı aspir genotiplerinde yağ içeriği dışındaki diğer özelliklerden daha fazla tohum ve yağ veriminin kuraklık stresinden etkilendiğini belirtmişlerdir (Nazari vd., 2017). Yapılan bir çalışmada, %50 çiçeklenme döneminde artan su kıtlığı stresiyle (%85 tarla kapasitesi nemi tükendikten sonra sulama) yağ içeriği ve palmitoleik asidin azaldığını göstermiştir (Akbari vd., 2020).

Yağlı tohumların yağ asitleri kompozisyonu genetik, ekolojik, morfolojik, fizyolojik ve kültürel uygulamaların farklılığından dolayı değişiklik göstermektedir. Bu nedenle kurak şartlarda ve sulanan farklı aspir çeşitlerindeki yağ kalitesi ve yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışma kuru ve sulu koşullardaki bazı aspir çeşitlerinin yağ kalitesini belirleyen yağ asitlerinin değişkenliğini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT**Materyal**

Bu araştırma; Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanında 2019-2020 ve 2020-2021 yetiştirme sezonlarında yürütülmüştür. Materyal olarak Safir, Göktürk, Koç, Balcı ve Dinçer çeşitleri kullanılmıştır.

Metot

Deneme tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Ana faktör olarak sulu-kuru, alt parselleri ise çeşitler oluşturmuştur. Denemede parseller 6 m boyunda 5 sıradan oluşturulmuş, sıra arası 30 cm, sıra üzeri mesafesi ise 10 cm olarak tutulmuştur. Pullukla işlenen deneme alanı, ekim öncesi (ekimden 15 gün önce) pülverizatör ile yabancı ot ilacı (*Pendimethalin*) uygulanıp, arkasından kültivatör ve tapan çekilerek ekime hazır hale getirilmiştir.

Ekim işlemi denemenin ilk yılında 5 Kasım 2020 tarihinde, ikinci yılda ise 7 Kasım 2021 tarihinde yapılmıştır. Çıkiştan sonra bitkiler 3-4 yapraklı dönemdeyken seyreltilmiştir. Bitkinin fosfor gereksinimi için taban gübresi olarak DAP (diamonyum fosfat %18N-%46P) gübresi uygulanmıştır. Gübre uygulamasında saf gübre olarak; azot (3 N kg da⁻¹) ve fosfor (8 N kg da⁻¹) taban gübresi uygulanmıştır. Üst gübrelemede azot kaynağı olarak üre (%46 N) gübresinden saf olarak 7 kg da⁻¹ uygulanmıştır. Kuru koşullarda yetiştiriciliği yapılan parsellerde sulama yapılmayıp, bitkiler doğal yağış koşullarında yetiştirilmiştir. Sulama konusu olan parsellerde ise iklim şartları dikkate alınarak sulama yapılmıştır. Denemenin ilk yılında toplam 3 kez (toplam 225 mm), ikinci yılında ise 4 kez sulama (300 mm) yapılmış olup, yağmurlama sulama ile parsellere homojen bir şekilde su verilmiştir. Çalışmanın iki yılında da denemede görülen yaprak kurdu (*Spodoptera littoralis*) ve yaprak biti (*Aphidoidea*) zararlılarına karşı etkili 20 g l⁻¹ *Acetamiprid* etken maddeli toz preparatlı ilaç ile mücadele yapılmıştır.

Toprak ve İklim Özellikleri

Araştırmanın yapıldığı Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Osmanbey Yerleşkesine bağlı Tarımsal Araştırma ve Uygulama Alanından 30 cm derinliğinden alınan toprak örneğinin analiz sonuçları Çizelge 1'de yer almaktadır.

Çizelge 1. Deneme yerine ait toprakların bazı kimyasal özellikler.

Table 1. Some chemical properties of the soils of the experimental area.

Derinlik (cm)	pH	Organik madde (%)	Kireç (%)	Makro ve mikro besin elementleri (mg kg ⁻¹)						
				P	K	Mg	Fe	Zn	Cu	Mn
0-30	7.92	1.12	29.6	4.70	18.0	30.3	3.46	0.72	4.64	0.44

Elde edilen analiz sonuçlarına göre organik madde yönünden düşük (%1.12), hafif alkalın, çok kireçli, hafif tuzlu, killi-tınlı bünyeye sahip, fosfor içeriği az ve potasyum içeriği bakımından orta olduğu belirlenmiştir (Ramazanoglu, 2019).

Deneme yürütüldüğü Şanlıurfa ilinde iklim olarak karasal geçiş ikliminde ve bölgede yazlar sıcak ve kurak geçmekte, kışlar ise soğuk geçmektedir. Şanlıurfa iline ait 2019-2020, 2020-2021 yetiştirme dönemleri ve uzun yıllar ortalama sıcaklık ve yağış verileri Çizelge 2'de verilmiştir.

Denemenin ilk yılına ait ortalama sıcaklık değeri 14.99 °C iken, ikinci yıl 15.97 °C olmuştur. Uzun yıllar ortalama sıcaklık değeri ise 13.65 °C olarak ölçülmüştür. Denemenin ilk yılında yağışlar 584 kg m⁻², ikinci yılında 249 kg m⁻² ve uzun yıllar yağış miktarı ise 425.8 kg m⁻² olmuştur. Denemenin ilk yılı yetiştirme döneminde uzun yıllar ortalamasından yüksek, ikinci yıl ise uzun yıllar ortalamasından oldukça düşük değerler ölçülmüştür (Çizelge 2). Bu veriler dikkate alındığında denemenin ikinci yıl yetiştirme dönemi oldukça kurak geçmiştir.

Çizelge 1. 2019-2020 ile 2020-2021 ve uzun yıllar ortalamalarına ait bazı iklim verileri.

Table 2. Some climate data for 2019-2020 and 2020-2021 and long-year averages.

Aylar	2019-2020		2020-2021		1929-2020 Uzun yıllar ort.	
	Ortalama sıcaklık (°C)	Toplam yağış (kg m ⁻²)	Ortalama sıcaklık (°C)	Toplam yağış (kg m ⁻²)	Ortalama sıcaklık (°C)	Toplam yağış (kg m ⁻²)
Kasım	14.8	6.7	13.5	60.9	12.2	44.9
Aralık	9.0	277.7	9.4	61.5	7.5	80.1
Ocak	6.6	76.9	8.1	76.4	5.5	87.6
Şubat	7.0	24.1	10.4	13.4	7.0	69.5
Mart	13.3	90.8	11.7	33.7	10.8	62.8
Nisan	17.1	68.3	19.1	0.4	16.1	49.8
Mayıs	23.2	39.1	26.6	2.7	22.1	26.7
Haziran	28.9	0.4	29.0	0.0	28.0	4.4
Toplam	-	584	-	249	-	425.8
Ortalama	14.99		15.97		13.65	

(Anonim 2021, Şanlıurfa Meteoroloji Müdürlüğü kayıtları).

Ham yağ oranının belirlenmesi: Her parselden alınan 10 g kabuklu tohum havanda ezilmiş ve bundan 5'er gram numune alınmış ve kartuşlara konulduktan sonra yağ oranları soxhlet metodu ile n-hexzan ekstraksiyonunda 6 saat kaynatılmış ve n-hexzandan çıkan numuneler 72 saat süreyle 70 °C'de etüvde bekletilmiş, daha sonra tartılarak kuru ağırlık üzerinden ham yağ oranları % olarak saptanmıştır.

Yağ asitleri içeriğinin belirlenmesi: Soxhlet ile elde edilen ham yağ örnekleri esterleştirildikten sonra, FID donanımlı HRGC Mega 2 tip FISON marka gaz kromatografisinde yağ asitlerine ayrıştırılmıştır. Ayrıştırımda kolon olarak Permabond FFAP-DF-25 m x 0.25 mm ID tip kılcal kolon kullanılmıştır. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinden miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), palmitoleik asit (C16:1) ve stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1), linoleik (C18:2) asit ve araşidik asit (C20:0) oranları (%) olarak saptanmıştır. Yağ ve yağ asitleri analizleri Baydar (1997) tarafından belirlenen yöntemlere göre yapılmıştır.

Verilerin Analizi

Elde edilen veriler Minitab (18.3) istatistik programında tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre analiz edilmiş, ortalamalar Tukey testine göre (0.05) gruplandırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Yapılan birleştirilmiş yıllar varyans analizine göre incelenen özellikler bakımından yıllar arasında farklılıklar bulunduğundan her yılın verileri ayrı ayrı analiz edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. İncelenen özelliklere ait F değerleri

Table 3. F values of the investigated properties

Uygulamalar	F Değeri		F Değeri		F Değeri		F Değeri	
	2019-20	2020-21	2019-20	2020-21	2019-20	2020-21	2019-20	2020-21
	Miristik asit (c:14:0)		Palmitik asit (c16:0)		Palmitoleik asit (c16:1)		Stearik asit (c18:0)	
Tekerrür	0,75	1,52	0,13	1,51	3,40	2,54	1,40	3,27
Kuru-Sulu	184,76**	4,31 ^{ö.d.}	5,82*	46,94**	707,53**	0,03 ^{ö.d.}	13,48**	4,32 ^{ö.d.}
Çeşitler	164,82**	3,30*	10,37**	31,17**	7244,09**	4,79**	17,08**	10,69**
Kuru-Sulu×Çeşitler	186,78**	3,97*	5,22**	3,80*	453,05**	1,00 ^{ö.d.}	5,20**	2,69 ^{ö.d.}
Uygulamalar	Oleik asit (c18:1)		Linoleik asit (c18:2)		Araşidik asit (c20:0)			
	Tekerrür	0,05	1,91	1,51	0,16	0,25	0,11	
	Kuru-Sulu	15,01**	60,68**	14,31**	78,95**	56,94**	237,76**	
	Çeşitler	70,85**	861,48**	19,47**	395,27**	9,41**	549,82**	
Kuru-Sulu×Çeşitler	12,22**	118,59**	11,31**	74,99 ^{ö.d.}	16,38**	450,35**		

** : P≤0.01; * : P≤0.05 düzeyinde önemlidir. ö.d: önemli değil

Miristik Asit (c14:0)

Tetradekanoik asit olarak da adlandırılan miristik asit, hindistan cevizi yağı ve palmye yağı da dahil olmak üzere bazı katı ve sıvı yağlarda doğal olarak bulunan bir parçalanmış doymuş yağ asididir. (Anonim, 2022a).

Denemenin her iki yılında da istatistiksel olarak ($P \leq 0.01$ ve $P \leq 0.05$) farklı gruplar oluşmuştur. Çalışmada miristik asit oranları %0.09-0.82 arasında değişim göstermiştir. Denemenin ilk yılında kuru koşullarda Göktürk çeşidi (%0.82), ikinci yılda ise sulu koşullarda yetiştirilen Göktürk çeşidi (%0.65) daha fazla miristik asidi oluşturmuştur (Çizelge 4). Çalışmada 2019-20 yetiştirme sezonunda kuru şartlarda yetişen çeşitler sulu şartlarda yetişen çeşitlere nazaran daha yüksek değerler oluşturmuştur.

Çalışmada kullanılan çeşitlerin farklı değerlerde bulunması, çeşitlerin çevre interaksiyonundan ve farklı genotipik yapıya sahip olmalarından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, Baydar (2000)'in miristik asit değerinin (%0.24) olduğunu; Coşge vd. (2007) çeşitlerin çevre koşullarından etkilendiğini belirtmeleri sonuçlarımız ile uyum içerisindedir. Aspir bitkisinin, yağ asidi bileşiminde değişkenlik gösteren bir bitki olduğu, tohum olgunlaşması sırasında sıcaklık arttığında bazı yağ asitlerinin değişime uğradığını belirtmeleri (Samancı ve Özkaynak, 2003) çalışmamızla uyum içerisindedir.

Çizelge 4. Kuru ve sulu koşullarda yetiştirilen bazı aspir çeşitlerinin miristik asit (c14:0), palmitik asit (c16:0) ve palmitoleik asit (c16:1) yağ asitleri oranları ile %CV değerleri.

Table 3. Myristic acid (c14:0), palmitic acid (c16:0) and palmitoleic acid (c16:1) fatty acids ratios and %CV values of some safflower cultivars grown in dry and irrigated conditions.

Uygulamalar (İnteraksiyonlar)	Miristik asit (c14:0) (%)		Palmitik asit (c16:0) (%)		Palmitoleik asit (c16:1) (%)	
	2019-2020	2020-2021	2019-2020	2020-2021	2019-2020	2020-2021
Safir	0.11 b	0.11 b	7.00 cd	6.17 cd	0.11 ı	0.07
Koç	0.12 b	0.12 b	7.45 bcd	6.28 cd	0.15 hı	0.07
Kuru Koşullar × Göktürk	0.82 a	0.09 b	6.56 d	5.97 d	1.05 d	0.06
Balcı	0.18 b	0.11 b	9.36 a	6.82 ab	1.11 c	0.08
Diñçer	0.13 b	0.12 b	6.84 cd	6.49 bc	1.66 a	0.07
Safir	0.12 b	0.10 b	8.76 ab	6.38 c	0.23 g	0.07
Koç	0.11 b	0.12 b	7.23 bcd	6.49 bc	0.18 gh	0.07
Sulu Koşullar × Göktürk	0.11 b	0.65 a	7.71 abcd	6.49 bc	0.40 f	0.07
Balcı	0.17 b	0.13 b	8.47 abc	6.91 a	0.98 e	0.07
Diñçer	0.14 b	0.13 b	7.53 bcd	7.03 a	1.45 b	0.07
Ortalama	0.20	0.17	7.69	6.50	0.73	0.07
%CV	14.17	8.96	7.38	1.96	2.33	11.69

** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir. ö.d: önemli değil

Palmitik Asit (c16:0)

Palmitik asit (hexadekanoic asit) bitkiler ve hayvanlarda en yaygın bulunan doymuş yağ asididir. Karbon sayısı 16'dır, baz haline palmitat denir. Ergime sıcaklığı 63.1 °C'dir. Doymuş yağ asitleri grubundan olan palmitik yağ asidi oranının düşük olması istenmektedir (Anonim, 2022b).

Denemenin iki yılında da istatistiksel olarak ($P \leq 0.01$ ve $P \leq 0.05$) farklı gruplar oluşmuştur. Çalışmada palmitik asit oranı %5.97-9.36 arasında değişim göstermiştir. Denemenin ilk yılında kuru koşullarda Balcı çeşidi (%9.36), ikinci yılda ise sulu koşullarda yetiştirilen Balcı (%6.91) ve Diñçer (%7.03) çeşitleri daha fazla palmitik yağ asidi oluşturmuşlardır (Çizelge 4). Çalışmada, sulu koşullarda yetiştirilen çeşitlerin kuru koşullara göre daha fazla palmitik asit oluşturduğu; ayrıca denemenin ilk yılının ikinci yıla göre daha fazla palmitik asit oluşturduğu izlenmektedir.

Knowles (1988) aspir çeşitlerinin %6-8 arasında; Sabzaliyan vd. (2008) %5.48-8.78 arasında; Matthaus vd. (2015), aspir çeşitlerinin %5.7-6.81 arasında palmitik asit oluşturduğunu belirtmeleri çalışmamızla uyum

içerisindedir. Ashrafi ve Razmjoo (2010), çalışmalarında sulama seviyesinin artması ile çeşitlerin palmitik asit oranının düştüğünü belirtmesi çalışmamızla çelişki içerisindedir.

Palmitoleik Asit (c16:1)

Palmitoleik asit, 16 karbonlu, 7.C atomunda çift bağ içeren bir tekli doymamış yağ asididir. Palmitoleik asit, farmasötik uygulamalar için önemli bir yağ asididir (Abraham vd., 1989).

Denemenin ilk yılında istatistiksel olarak ($P \leq 0.01$) farklı gruplar oluşmuş, ancak ikinci yılda istatistiki olarak herhangi bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmada palmitoleik asit oranı %0.06-1.66 arasında değişim göstermiştir. Denemenin ilk yılında kuru koşullarda Dinçer çeşidi (%1.66), ikinci yılda ise sulu koşullarda yetiştirilen Balcı (% 0.08) çeşidi daha fazla palmitoleik yağ asidini oluşturmuştur (Çizelge 4). Çalışmada yıllar arasında uygulamalar yönünden farklılıklar olduğu izlenmektedir. Bunun nedeni olarak çevre etkileşimini ve çeşitlerin genotipinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Nagaraj ve Reddy (1997), iklim koşulları ve büyüme sezonunda sıcaklık değişimlerinin tohumdaki yağ asitlerinin değişime uğradığını belirtmeleri ve Arslan (2007), palmitoleik asit oranının çeşitlere göre %0.0-0.3 arasında değiştiğini bildirmeleri çalışmamızla uyum içerisindedir.

Stearik Asit (c18:0)

Saf stearik asit, beyaz kristaller halindedir. Yoğunluğu 0.847, ergime noktası 69-70 °C, kaynama noktası 383 °C'dir. Stearik asit en yaygın uzun zincirli (18 C) yağ asididir. Ayrıca gıda, elektronik, deterjan, sabun ve kozmetik üretiminde kullanılmaktadır (Anonim, 2022c).

Denemenin ilk yılında istatistiksel olarak ($P \leq 0.01$) farklı gruplar oluşmuş, ancak ikinci yılda istatistiki olarak herhangi bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmada stearik asit oranı %1.09-3.25 arasında değişim göstermiştir. Denemenin ilk yılında sulu koşullarda Safir çeşidi (3.25) ve Balcı çeşidi (%3.19), ikinci yılda ise kuru ve sulu koşullarda yetiştirilen Koç (%1.47 ve 1.49) çeşidi daha fazla stearik yağ asidi oluşturmuştur (Çizelge 2). Çalışmada denemenin ilk yılında sulama yapılan aspir çeşitlerinin kuru koşullarda yetiştirilenlere göre daha fazla stearik asit (c18:0) oluşturduğu izlenmektedir (Çizelge 5). Coşge vd. (2007) ile Matthaus vd. (2015)'nin çalışmalarında bulunduğu değerlerin çalışmamızla örtüştüğü; Ashrafi ve Razmjoo (2010) ise çalışmalarında sulama seviyesinin artması ile çeşitlerin stearik asit (c18:0) oranının düştüğünü belirtmesi çalışmamızla çelişki içerisindedir.

Oleik Asit (cis-C_{18:1} n-9)

Oleik asit (cis-C_{18:1} n-9) ve elaidik asit (*trans*C_{18:1} n-9) geometrik izomerlerdir. Denemenin iki yılında da istatistiksel olarak ($P \leq 0.01$) farklı gruplar oluşmuştur. Çalışmada oleik asit oranı %12.20-24.03 arasında değişim göstermiştir. Denemenin ilk yılında kuru ve sulu koşullarda Safir çeşidi (%22.77 ve %23.54), ikinci yılda ise sulu koşullarda yetiştirilen Safir (%24.03) ve Koç (%23.11) çeşitleri daha fazla oleik asiti oluşturmuştur (Çizelge 4). Çalışmada denemenin ilk yılında sulama yapılan aspir çeşitlerinin kuru koşullarda yetiştirilenlere göre; ikinci yılda ise kuru koşulların sulu koşullara göre daha fazla oleik asit oluşturduğu ve yıllar arasında fark olduğu izlenmektedir (Çizelge 5). Çalışmada bulduğumuz çeşitler arasındaki oleik asit değerleri Coşge vd. (2007), Ashrafi ve Razmjoo (2010), Matthaus vd. (2015)'nin çalışmalarında bulunduğu değerlerle uyum içerisindedir. Ayrıca Ashrafi ve Razmjoo (2010) çalışmalarında sulama seviyesinin artması ile çeşitlerin oleik asit oranının düştüğünü belirtmesi çalışmamızın ilk yılı ile uyumlu ikinci yılı ile çelişki içerisindedir.

Linoleik Asit (c18:2)

Linoleik asit, çoklu doymamış bir omega-6 yağ asididir. Suda hemen hemen çözünmeyen ancak birçok organik çözücüde çözünebilen renksiz veya beyaz bir yağdır. İnsanlar için diyet yoluyla elde edilmesi gereken üç esansiyel yağ asidinden biridir (Simopoulos, 2008).

Denemenin ilk yılında istatistiksel olarak ($P \leq 0.01$) farklı gruplar oluşmuş, ancak ikinci yılda istatistiki olarak herhangi bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmada linoleik asit oranları %59.72-79.26 arasında değişim göstermiştir. Denemenin iki yılında da sulu koşullarda yetiştirilen Dinçer çeşidi (%73.39 ve %79.26) en yüksek linoleik asidi değerini oluşturmuştur (Çizelge 5).

Çizelge 5. Kuru ve sulu koşullarda yetiştirilen bazı aspir çeşitlerinin stearik asit (c18:0), oleik asit (c18:1) ve linoleik asit (c18:2) yağ asitleri oranları ile %CV değerleri.

Table 4. Stearic acid (c18:0), oleic acid (c18:1) and linoleic acid (c18:2) fatty acid ratios and %CV values of some safflower cultivars grown in dry and irrigated conditions.

Uygulamalar (İnteraksiyonlar)	Stearik asit (c18:0) (%)		Oleik asit (c18:1) (%)		Linoleik asit (c18:2) (%)		
	2019-2020	2020-2021	2019-2020	2020-2021	2019-2020	2020-2021	
Kuru Koşullar ×	Safir	2.37 bc**	1.19	22.77 a	17.56 d	64.05 bc	75.28
	Koç	2.89 ab	1.47	17.59 bc	20.78 bc	68.49 ab	71.23
	Göktürk	2.77 ab	1.39	19.97 ab	21.83 b	60.32 c	70.47
	Balcı	2.91 ab	1.26	21.30 a	12.98 e	61.14 c	78.80
	Dinçer	1.90 c	1.33	12.29 d	13.15 e	63.28 bc	78.81
Sulu Koşullar ×	Safir	3.25 a	1.28	23.54 a	24.03 a	61.35 c	67.92
	Koç	2.77 ab	1.49	17.63 bc	23.11 a	68.39 ab	67.67
	Göktürk	2.74 ab	1.27	21.13 ab	19.66 c	59.72c	72.59
	Balcı	3.19 a	1.09	14.53 cd	12.77 e	68.37 ab	78.80
	Dinçer	2.30 bc	1.17	12.44 d	12.20 e	73.39 a	79.26
Ortalama	2.71	1.29	17.92	17.81	64.85	74.14	
%CV	7.85	6.84	6.82	2.16	3.12	0.74	

** : P≤0.01; * : P≤0.05 düzeyinde önemlidir. ö.d: önemli değil.

Denemenin ikinci yılı uygulama ve çeşitler bakımından ilk yıla göre daha fazla linoleik asit oluşturmuştur. İkinci yılı deneme sonuçlarının yüksek çıkması iklim koşullarına bağlanabilir. Nitekim iklim koşulları incelendiğinde denemenin ikinci yılı ilk yıla göre kurak ve sıcak geçmiştir (Çizelge 2). Denemede elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, yıllara göre değişkenliğin çevresel faktörlerin etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Çevre koşullarının yağ asitlerini etkilediklerini (Matthaus vd., 2015), Lajara vd. (1990)'nın çiçeklenme ve olgunlaşma arasında geçen sürede sıcaklığın yağ asitlerini etkileyen en önemli faktör olduğunu belirtmeleri çalışmamızla uyum içerisindedir. Çalışmamızda linoleik asit oranı %79.26'ya kadar çıkmıştır ki, bu da istenen bir durumdur. Velasco ve Fernandez-Martinez (2001), linoleik asit oranının %71-75 arasında, Guan vd. (2008) ise linoleik asit oranının %71-75 arasında olduğunu belirtmeleri çalışmamızla uyum içerisindedir.

Araşidik Asit (c20:0)

İkonoik asit olarak da bilinen araşidik asit, 20 karbonlu bir doymuş yağ asididir. Balık ve bitkisel yağlarda doğal olarak bulunan doymuş bir yağ asididir. Araşidik asit gibi doymuş yağ asitleri bakımından zengin diyetlerin, düşük yoğunluklu lipoproteinleri arttırdığı (LDL) ve yüksek kan kolesterol seviyelerine neden olduğu bilinmektedir.

Denemenin iki yılında da istatistiksel olarak (P≤0.01) farklı gruplar oluşmuştur. Çalışmada araşidik asit oranı %0.10-0.34 arasında değişim göstermiştir. Denemenin ilk yılında sulu koşullarda Göktürk çeşidi (%0.24), ikinci yılda ise kuru koşullarda yetiştirilen Safir (%0.34) çeşidi daha fazla araşidik asidi oluşturmuştur (Çizelge 6).

Coşge vd. (2007) çalışmalarında araşidik asit oranının %0.22-0.33 arasında olduğunu belirtmeleri çalışmamızla uyumlu olduğunu göstermektedir. Yıllar arasında değişkenlik olduğu izlenmektedir (Çizelge 5). Bunun nedenin yıllar arasında değişen iklim koşulları olduğu tahmin edilmektedir. Nitekim Nagaraj ve Reddy (1997), iklim koşulları ve büyüme sezonunda sıcaklık değişimleri tohumdaki yağ asitlerinin değişime uğradığını belirtmeleri çalışmamızla uyum içerisindedir.

Çizelge 6. Kuru ve sulu koşullarda yetiştirilen bazı aspir çeşitlerinin araşidik asit (c20:0) yağ asidi ve CV değerleri üzerine etkileri.

Table 5. Effects of some safflower cultivars grown in dry and irrigated conditions on aracidic acid (c20:0) fatty acid and %CV values.

Uygulamalar (İnteraksiyonlar)	Araşidik asit (c20:0) (%)	
	2019-2020	2020-2021
Safir	0.12 de**	0.34 a
Koç	0.11 de	0.11 e
Kuru Koşullar × Göktürk	0.13 cde	0.13 de
Balcı	0.12 de	0.13 de
Dinçer	0.15 bcd	0.16 cde
Safir	0.21 ab	0.21 bc
Koç	0.16 bcd	0.17 cd
Sulu Koşullar × Göktürk	0.24 a	0.24 b
Balcı	0.18 bc	0.15 de
Dinçer	0.10 e	0.12 de
Ortalama	0.15	0.24
%CV	13.13	8.41

** : P≤0.01; * : P≤0.05 düzeyinde önemlidir. ö.d: önemli değil

SONUÇ

Yağ bitkilerinin içerdikleri yağ asitleri bileşimleri sürekli sabit olmayıp; genetik, ekolojik, morfolojik, fizyolojik ve kültürel uygulamaların kontrolü altında olduğu birçok çalışmada belirlenmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; çalışmada kullanılan çeşitlerin ve uygulamalarının yağ asitleri değerlerinin farklı değerlerde bulunması, çevre interaksiyonundan ve farklı genotip yapıya sahip olmalarından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Sulama yapılan çeşitlerde kuru şartlarda yetiştirilen çeşitlere göre daha fazla linoleik asit (C18:2) ve palmitik asit (C16:0) oranının oluştuğu, ayrıca çalışmanın ikinci yılında linoleik asidin birinci yıla göre daha fazla yağ asidi oluşturduğu saptanmıştır. Çalışmanın ikinci yılında doymamış yağ asidi toplam oranı (linoleik asit (C18:2) + oleik asit (C18:1)) birinci yıla göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni olarak, çalışmanın ikinci yılındaki sıcaklık değerlerinin ilk yıla göre daha yüksek çıkması olduğunu söyleyebiliriz. Sonuç olarak, bitkisel yağların, yağ asitleri kompozisyonunun bilinmesi yağın kalite ve standardının belirlenmesi ile amaca göre üretim yapılmasını sağlayacaktır.

EKLER

Çalışmanın bazı parametreleri başka dergilerde yayınlanmış olup, çalışmanın birinci yılı Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (HÜBAP proje no: 20093) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKISI

Vedat Beyyavaş ve Leyla Doğan çalışmayı tasarlayarak denemeleri kurmuş ve çalışmayı birlikte yürütmüş, Hasan Haliloğlu ise verileri analiz etmiş, makale ile ilgili literatür taraması yapmış ve makaleyi yazmışlardır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Mohsen, A. A., & Mahmoud, G. O. (2013). Modeling the influence of nitrogen rate and plant density on seed yield, yield components and seed quality of safflower. *American Journal of Experimental Agriculture*, 3(2): 336-360.
- Abraham, R., Riemersma, R. A., Wood, D., Elton, R., & Oliver, M. F. (1989). Adipose fatty acid composition and the risk of serious ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*, 63(5), 269-272. <https://doi.org/10.1016/B978-0-9818936-9-3.50007-1>.

- Akbari, G. A., Heshmati, S., Soltani, E., & Amini Dehaghi, M. (2020). Influence of seed priming on seed yield, oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit. *International Journal of Plant Production*, 14(2), 245-258. <https://doi.org/10.1007/s42106-019-00081-5>.
- Alqudah, A. M., Samarah, N. H., & Mullen, R. E. (2011). Drought stress effect on crop pollination, seed set, yield and quality. *Alternative farming systems, biotechnology, drought stress and ecological fertilisation* (pp. 193-213). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0186-1_6.
- Anonim, (2021). Şanlıurfa Meteoroloji Müdürlüğü kayıtları. Şanlıurfa, Türkiye.
- Anonim, (2022a). Miristik Asit. https://www.atamanchemicals.com/myristic-acid_u24785/?lang=TR [Erişim tarihi: 19 Eylül 2022].
- Anonim, (2022b). Palmitik Asit. https://tr.wikipedia.org/wiki/Palmitik_asit#:~:text=Palmitik%20asit [Erişim tarihi: 19 Eylül 2022].
- Anonim, (2022c). Stearik Asit. https://tr.wikipedia.org/wiki/Stearik_asit [Erişim tarihi: 19 Eylül 2022].
- Arslan, B. (2007). The determination of oil content and fatty acid compositions of domestic and exotic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes and their interactions. *Journal of Agronomy*, 6: 415-420.
- Ashrafi, E., & Razmjoo, K. (2010). Effect of irrigation regimes on oil content and composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(5), 499-506. DOI 10.1007/s11746-009-1527-8.
- Bagheri, H., Andalibi, B., Moghaddam, M., Zangani, S., & Soleiman, S. (2012). Safflower (*Carthamus tinctorius* cv. Sina) oil and seed yield improvement in rainfed condition by atrazine foliar application. *Annals of Biological Research* 3(2), 1202-1209.
- Baydar, H. (1997). Türkiye susam (*Sesamum indicum* L.) populasyonlarında bazı özelliklerin varyasyonu ve verim ile kalite tipi hat geliştirme olanakları. [Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.] Antalya. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>.
- Baydar, H. (2000). The oil synthesis, the quality and the importance of the breeding for improved quality in the plants. *Ekin*. 4:50-57.
- Bergman, J., & Kandel, H. (2019). Safflower Production. North Dakota State University Fargo, Nort Dakota. *Research Extension Centers*. A870. Pp:4.
- Belgin, C., Bilal, G., & Mustafa, K. (2007). Oil content and fatty asit composition of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties sown in spring and winter. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1(3): 11-15.
- Beyyavas, V., & Haliloglu, H. (2021). Effects of humic asit and iron applications on the yield, some plant characteristics and oil ratio of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Applied Ecology and Environmental Research* 19(1): 307-319.
- Beyyavas, V., & Dogan, L. (2022). Yield, yield components and oil ratios of irrigated and rainfed safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.) under semi-arid climate conditions. *Applied Ecology And Environmental Research* 20(2):1807-1820. <http://www.aloki.hu> ISSN 1589 1623 (Print) ISSN 1785 0037 (Online) DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/2002_18071820.
- Coşge, B., Gurbuz, B., & Kiralan, M. (2007). Oil content and fatty asit composition of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties sown in spring and winter. *International Journal of Natural & Engineering Sciences*, 1(3):11-15.
- Coşge, B., Kiralan, M., & Fawzy, M. (2016). Ramadan impact of harvest times on the quality characteristics of oils recovered from different safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars sown in spring and autumn. *European Food Research and Technology*, 242(3), 371-381. DOI 10.1007/s00217-015-2547-2.
- Dajue, L., & Mundel, H. H. (1996). Safflower, promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 7. *Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, (ISBN92-9043-297-7)*. 85 pp.
- Dogan, L. (2021). Determination of yield components yield and oil ratio of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars in sanliurfa ecological conditions. Harran University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Field Crops. Master Thesis, 67p., Sanliurfa, Turkey.
- Emongor, V. E., Oagile, O., & Kedikanetswe, B., (2015). Effects of plant population and season on growth and development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) as an ornamental plant. *Acta Horticulturae* 1077(1077): 35-45.
- Eryiğit, T., Yıldırım, B., Kumlay, A. M. & Sancaktaroğlu, S. (2015). The effects of different row distances and nitrogen fertilizer rates on yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under micro-climate conditions of Iğdır plain. Turkey 3rd International Conference on Biological, Chemical & Environmental Sciences (BCES-2015), 21-22 September, Kuala Lumpur (Malaysia), pp.17-22.
- Islam, B. P., Monirifar, H., & Ghassemi, M. T. (2010). Evaluation of late season drought effects on seed and oil yields in spring safflower genotypes. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*. 34(4): 373-380.
- FAO, (2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations Crop Statistics. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Erişim Tarihi: 18 Temmuz 2022].

- Guan, L. L., Wu, W., & Zheng, Y. L. (2008). Seed oil and fatty acid of different safflower genotypes and their correlations with agronomic traits and photosynthetic parameters. *The Philippine Agricultural Scientist*, 91(4): 383-388.
- Gürsoy, M., Başalma, D., & Nofouzi, F. (2018). The effects of different row spacing and spacing on yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *Selcuk Journal Agriculture Food Science* 32(1): 20-28.
- Han, X., Cheng, L., Zhang, R., & Bi, J. (2009). Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 370-376.
- Hussain, M. I., Dionyssia-Angeliki, L., Farooq, M., Nikoloudakis, N., & Khalid, N. (2015). Salt and drought stresses in safflower: a Review. *Agronomy for Sustainable Development* 36(4): 1-31.
- Johnson, R. C., Stout, D. M., & Bradley, V. L. (1993). A rich source of safflower germplasm. Proceeding Third International Safflower Conference, Beijing. *Botanical Garden Institute of Botany Chinese Academy of Sciences*, June 14-18, Beijing-China, pp. 202-208.
- Knowles, P. F. (1988). Recent advances in oil crops breeding. In: Applewhite TH (ed) In: Proceeding of the world conferences on biotechnology for the fats and oil industry, *American Oil Chemists Society*. pp 35-38.
- Kose, A. (2017). Determination of agricultural performance of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under Eskişehir conditions. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Science*. 31(2): 1-7.
- Lajara, J. R., Diaz, U., & Diaz, Q. (1990). Definite influence of localization and climatic conditions on fatty acid composition of sunflower seed oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 67(10), 618-623.
- Matthaus, B., Özcan, M. M., & Al Juhaimi, F. Y. (2015). Fatty acid composition and tocopherol profiles of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed oils, *Natural Product Research*, 29(2): 193-196. DOI: 10.1080/14786419.2014.971316.
- Nagaraj, G., & Reddy, P. S. (1997). Some factors influencing safflower seed and oil quality. *International Safflower Conference*. pp 347-349. Bari, Italy.
- Nazari, M., Mirlohi, A., & Majidi, M. M. (2017). Effects of Drought Stress on Oil Characteristics of *Carthamus* Species. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 94(2), 247-256. DOI 10.1007/s11746-016-2938-y.
- Nimbkar, N. (2002). Safflower rediscovered. *Times Agricultural Journal*, 2(1): 32-36.
- Pushpavalli, R., Zaman-Allah, M., Turner, N. C., Baddam, R., Rao, M. V., & Vadez, V. (2015). Higher flower and seed number leads to higher yield under water stress conditions imposed during reproduction in chickpea. *Functional Plant Biology*, 42(2), 162-174. <https://doi.org/10.1071/FP14135>.
- Ramazanoglu, E. (2019). Determination and mapping of the relationship between potassium and ammonium of calcareous soils with different moisture content. *International Journal of Scientific and Technological Research*. 5(7): 17-26.
- Robertson, J. A., Chapman, G. W., & Wilson, R. L. (1978). Relation of days after flowering to chemical composition and physiological maturity of sunflower seed. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 55(2), 266-269.
- Sabzaliyan, M. R., Saeidi, G., & Mirlohi, A. (2008). Oil content and fatty acid composition in seeds of three safflower species. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 85(8), 717-721.
- Samancı, B., & Özkaynak, E. (2003). Effect of planting date on seed yield, oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars grown in the mediterranean region of turkey. *Journal of agronomy and crop science*, 189(5), 359-360.
- Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233(6): 674-688. doi:10.3181/0711-mr-311.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu Verileri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>.
- Velasco, L., & Fernandez-Martinez, J. M. (2001). Breeding for oil quality in safflower. In J. W. Bergman & H. H. Mundel (Eds.), In Proceedings of Vth International Safflower Conference (pp. 133-137). ND and Sidney, MO, USA: Williston.
- Yeilaghi, H., Arzani, A., & Ghaderian, M. (2015). Evaluating the contribution of ionic and agronomic components toward salinity tolerance in safflower. *Agronomy Journal* 107(6): 2205-2212. doi:10.2134/agronj15.0202.



Seed Priming with Ascorbic Acid to Ameliorate the Effects of Salinity Stress on Germination and Growth Traits of Rapeseed (*Brassica napus* L.)

Tuzluluk Stresinin Kolza Tohumunun (*Brassica napus* L.) Çimlenme ve Büyüme Özellikleri Üzerindeki Etkilerini İyileştirmek için Askorbik Asit ile Tohum Hazırlama

Sevda Taşan¹ 

Received: 13.03.2023

Accepted: 06.06.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: This study was conducted to determine the effects of seed priming with ascorbic acid (AsA) on germination and seedling characteristics of rapeseed (*Brassica napus* L.) under different salinity levels. To this end, the study examined five salinity levels (0.20, 5.0, 10.0, 15.0, and 20.0 dS m⁻¹ NaCl) and four priming doses (control, 0.5, 1.0, and 2.0 mM ascorbic acid). Salt stress negatively affected germination and some plant growth traits, such as radicle length (RL), plumule length (PL), radicle fresh weight (RFW) and plumule fresh weight (PFW), finally germination percentage (FGP), germination index (GI), mean germination time (MGT) and seedling vigor index (SVI). On the other hand, priming with AsA positively affected all parameters except FGP, PFW and salt tolerance index (STI). According to the interaction of salinity stress and priming, the highest values for GI (125.3), MGT (1.63 days), PFW (0.35 g), and STI (139.3%) were obtained at 5.0 dS m⁻¹ salinity stress and 1.0 mM AsA dose. However, the highest value was obtained for RL (10.6 cm) and SVI (1170.7) at the control treatment and 0.5 mM AsA dose, whereas the highest value was obtained for PL (1.7 cm) at the control treatment and 1.0 mM AsA dose. Ascorbic acid at low doses (0.5 and 1.0 mM) had a positive effect on seedling germination and growth traits, while higher concentrations had a toxic effect on germination. Thus, it was concluded that priming rapeseed seeds with an AsA dose of 0.5 mM could reduce the restrictive impact of salinity stress on seed germination and seedling improvement. Further studies on the yield and growth parameters of rapeseed under salt stress by AsA application are recommended.

Keywords: Ascorbic acid, germination traits, rapeseed, salinity

&

Öz: Bu çalışma, farklı tuzluluk seviyeleri altında askorbik asit (AsA) ile tohum hazırlamanın kolza tohumlarının (*Brassica napus* L.) çimlenme ve fide özellikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, çalışmada beş tuzluluk seviyesi (0.20, 5.0, 10.0, 15.0 ve 20.0 dS m⁻¹ NaCl) ve dört priming dozu (kontrol, 0.5, 1.0 ve 2.0 mM askorbik asit) incelenmiştir. Tuz stresi çimlenmeyi ve kökçük uzunluğu (RL), sapçık uzunluğu (PL), kökçük taze ağırlığı (RFW), sapçık taze ağırlığı (PFW), nihai çimlenme yüzdesi (FGP), çimlenme indeksi (GI), ortalama çimlenme süresi (MGT) ve vigor indeksi (SVI) gibi bazı çimlenme ve fide büyüme özelliklerini olumsuz etkilemiştir. AsA ile yapılan priming ise FGP, PFW ve tuz tolerans indeksi (STI) dışındaki tüm parametreleri olumlu etkilemiştir. Tuzluluk stresi ve priming etkileşimine göre en yüksek GI (125.3), MGT (1.63 gün), PFW (0.35 g) ve STI (%139.3) değerleri 5.0 dS m⁻¹ tuzluluk stresi ve 1.0 mM AsA'de elde edilmiştir. Bununla birlikte, RL (10.6 cm) ve SVI (1170.7) için en yüksek değerler kontrol konusu ve 0.5 mM AsA dozunda elde edilirken, PL (1.7 cm) için en yüksek değer kontrol konusu ve 1.0 mM AsA dozunda elde edilmiştir. Düşük dozlarda (0.5 ve 1.0 mM) askorbik asit, çimlenme ve fide büyüme özellikleri üzerinde olumlu bir etkiye sahipken, daha yüksek konsantrasyonlar çimlenme üzerine toksik etki yapmıştır. Bu nedenle kolza tohumlarının 0.5 mM AsA dozu ile ön uygulamaya tabi tutulmasının tuz stresinin tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerindeki kısıtlayıcı etkisini azaltabileceği sonucuna varılmıştır. Tuz stresi altında AsA uygulamasının kolzanın verim ve gelişme parametrelerine etkileri ile ilgili ileri araştırmaların yapılması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Askorbik asit, çimlenme özellikleri, kolza, tuzluluk

Cite as: Taşan, S. (2023). Seed priming with ascorbic acid to ameliorate the effects of salinity stress on germination and growth traits of rapeseed (*Brassica napus* L.). International Journal of Agriculture and Wildlife Science. 9 (2), 239 – 251 doi: 10.24180/ijaws.1264452

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Dr. Sevda TAŞAN, Ondokuz Mayıs University, Department of Agricultural Structures and Irrigation, Samsun, Türkiye, sevda.safi@omu.edu.tr (Corresponding author) ORCID: 0000-0002-4335-4074

INTRODUCTION

Rapeseed (*Brassica napus* L.) belongs to the Brassicaceae family and is the third-largest oil crop worldwide, which plays an essential role in oilseed production (Wang et al., 2023). Recently, the multifunctional use of canola, including as a vegetable, landscaping, and forage, has developed rapidly (Batool et al., 2022). Brassica crops are frequently cultivated in dry and semi-arid environments, where the build-up of significant salt concentrations has a detrimental effect on germination, early seedling development, and yield (Shah et al., 2018). Rapeseed is a moderately salt-tolerant species (Batool et al., 2021). Moreover, early development stage osmotic stress and ionic imbalance caused by salinity stress negatively impacted rapeseed growth, photosynthesis, and nutrient absorption, significantly reducing production.

Salinity is an important abiotic stress factor affecting plant productivity in both irrigated and non-irrigated agricultural lands all over the world (Çirka et al., 2021). Salinity has a negative impact on plant development at all stages. The seed germination phase is the first and most crucial phase of a plant's development. The germination stage of a seed is one of the most responsive to salinity (Wan et al., 2018). For this reason, the salinity tolerance of seeds at the germination stage is critical for growth in saline soils (Ajmal Khan and Gulzar, 2003). Due to an external osmotic potential that limits water uptake, or the deleterious effects of Na⁺ and Cl⁻ ions, or both, on germinating seeds, seed germination and emergence are reduced under saline conditions (Mahdavi and Rahimi, 2013). With the use of new research techniques, the deleterious effects of salt on plants are being attempted to be improved. Seed priming is one of the methods to promote the germination of seeds in the face of environmental challenges (Fujikura et al., 1993). Priming seeds is an extremely efficient method of increasing germination rates. According to Tanur and Yorgancılar (2020), canola seeds primed with ascorbic acid showed higher germination rates when exposed to increasing doses of salt. Several studies have confirmed the positive effects of seed priming on germination under salt stress (Perveen and Hussain, 2021; Azeem et al., 2023).

To accelerate and improve the uniformity of germination and emergence, seed priming is a popular practise nowadays (Moreno et al., 2018). Seed priming can be defined as the controlled hydration of seeds immersed in a low osmotic potential solution to initiate germination metabolism without prolonging radicals. Seed priming is an inexpensive and easy-to-use method that helps increase germination by regulating enzymatic reactions and water uptake (Ceritoğlu and Erman, 2020). There are many techniques for seed priming, such as hydropriming, halopriming, and Osmo-priming. Many seed priming methods and strategies have been developed with different solutions to improve seed germination under different stress conditions (Mahdy et al., 2020; Ali et al., 2020; Bahrabadi et al., 2022).

When plants are exposed to stress, the production and accumulation of toxic reactive oxygen species, including O₂, H₂O₂, and OH, increases (Mittler, 2002). Plants have evolved various protective mechanisms to prevent oxidative damage caused by salt stress. The increased activity of antioxidant enzymes contributes to the prevention of stress-induced damage by plants (Ahmad et al., 2015). Both enzymatic (catalase (CAT), peroxidases (POD), etc.) and non-enzymatic (ascorbic acid, etc.) antioxidants play an important role in scavenging toxic ROS. Ascorbic acid (AsA) is an important water-soluble compound and a non-enzymatic antioxidant that stimulates plant growth and ameliorates and adequately reduces the harmful effects of excess salt (Azeem et al., 2023). AsA can increase a plant's growth and its ability to withstand stress (Bilska et al., 2019). Numerous studies have reported that plant growth under salt stress improves with the use of AsA (Niu et al., 2022). Ghoohestani et al. (2012) reported that seed preparation with ascorbic acid reduced the negative effects of salinity in tomato seeds, and this was achieved with an ascorbic acid dose of 150 mg L⁻¹. AsA seed priming at different concentrations improved seed germination under saline conditions in rapeseed (Molnár et al., 2020), wheat (Baig et al., 2021), barley (Hozayn and Ahmed, 2019), bean (Azooz et al., 2013).

Rapeseed is an important source of vegetable oil worldwide and is moderately salinity tolerant. Therefore, it is very important to determine different applications and dosages that help to improve salt tolerance to increase the yield of rapeseed. However, there are few studies in the literature on the effects of interactions between salt and ascorbic acid on germination and growth characteristics of rapeseed. Therefore, this study

was conducted to investigate the effects of seed treatment with ascorbic acid on germination of rapeseed under salt stress conditions.

MATERIAL AND METHOD

To evaluate the effect of seed priming with ascorbic acid on the germination of rapeseed under salt stress, laboratory experiments were conducted in February 2023 at Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Structures and Irrigation, Turkey. The winter rapeseed cultivar United Genetic-Es Neptune was used as material.

Treatments and Experimental Design

The experiments were carried out in sterilized petri dishes under controlled laboratory conditions. The experiment was arranged in a completely randomized design with a factorial arrangement with three replications. In this study, 0.20 (control), 5.0, 10.0, 15.0 and 20.0 dS m⁻¹ NaCl solution and 0 (control), 0.5, 1.0 and 2.0 mM ascorbic acid (AsA) concentrations were used.

The seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) were surface sterilized in a 5% NaOCl (sodium hypochlorite) solution for 10 min and then washed five times with distilled water. The surface-sterilized seeds were placed in AsA solutions of various concentrations for 10 hours for priming and then dried on filter paper at room temperature for 24 hours until they regained their original moisture content. Twenty seed samples primed with different concentrations of each ascorbic acid were placed in sterile 9-cm standard glass petri dishes on filter paper, and 10 ml of five different salt concentrations were added. Petri dishes were covered and incubated at 20°C with a 16-hour photoperiod in an incubator. The filter papers were changed every two days, and 10 ml of saline solutions was added. The seeds were considered germinated when the radicle emerged. The number of germinated seeds in each petri dish was counted for seven days, starting on the second day at every 24 h.

Calculated Germination Indices

After the 7th day, germinated seeds were taken out from the petri dishes, and final germination percentage and some other primary germination and seedling growth properties such as germination index, mean germination time, radicle length, plumule length, radicle fresh weight and plumule fresh weight were determined. 10 random seedlings were used to measure radicle length, plumule length, radicle fresh weight and plumule fresh weight. The vigor index was calculated using the obtained radicle and plumule lengths. (Abdul-Baki and Anderson, 1970).

The finally germination percentage, germination index and mean germination time were calculated by the following equations;

$$\text{Finally Germination percentage (FGP)} = \frac{\text{Number of germinated seeds}}{\text{Total number of seed}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Germination Index (GI)} = \frac{\text{Germination \% in each treatment}}{\text{Germination \% in the control}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Mean germination time (MGT)} = \frac{\sum(N_i T_i)}{\sum N_i} \quad (3)$$

Where N_i is the number of germinated seeds on day T_i , and T_i is the number of days counted from the beginning of the germination test.

Using the equation from Fathi and Gaafar (2015), the salt tolerance index (STI) was calculated.

$$\text{Salt tolerance index (\%)} = \left(\frac{\text{TFW at } S_x}{\text{TFW at } S_0} \right) \times 100 \quad (4)$$

Where TFW, total fresh weight, S_0 ; control, S_x ; a given concentration out of four concentration.

To calculate germination indices, germinated seeds were counted daily. Measurements were conducted on ten randomly selected seedlings in each petri dish. A millimeter ruler was used to measure the radicle and plumule lengths accurately. Then, these two pieces were weighed to determine fresh weight. Following that, they were carefully weighed using a sensitive balance of 0.001.

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using the JMP (SAS institute). For each group classification, the mean value, the standard deviation (SD), the minimum, and the maximum were calculated. Two-way analysis of variance (two-way ANOVA) and least significant difference (LSD) tests for pair-wise multiple comparisons was used for statistical analysis of the data. The statistical significance was defined at ($p < .05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analysis of the variance of germination traits of rapeseed under salinity stress and ascorbic acid priming treatments are shown in Table 1, and the results of seedling growth traits are shown in Table 2. The germination index (GI) and mean germination time (MGT) were significantly affected by both salinity and priming treatments. However, finally germination percentage (FGP) was significantly affected only by salinity treatments but not by priming treatments (Table 1). The interaction between priming and salinity was significant for GI ($p < .01$) and MGT ($p < .001$).

Table 1. Analysis of variance on the impact of salinity and ascorbic acid on germination properties of rapeseed.
Çizelge 1. Tuzluluk ve askorbik asidin kolza'nın çimlenme özellikleri üzerindeki etkisine ilişkin varyans analizi.

Treatment	df	FGP (%)		GI		MGT (day)	
		Mean Square	LSD0.05	Mean Square	LSD0.05	Mean Square	LSD0.05
Salinity	4	515.625***	3.283	3596.933***	3.847	4.151***	0.013
Priming	3	33.889 n.s.	2.937	122.728**	3.440	0.092*	0.115
Salinity * Priming	12	25.903 n.s.	6.566	80.978**	7.693	0.111***	0.257
Error	40	15.83		21.73		0.02	
CV (%)			4.381		4.562		6.487

***: $p < .0001$, **: $p < .01$, *: $p < .05$, n.s.: non-significance.

Table 2 shows that salinity significantly affected all growth traits ($p < .001$). In addition, RL, PL, RFW and SVI were significantly affected by the priming treatments. Finally, the interaction between priming and salinity was significant for all seedling growth traits studied ($p < .001$).

Table 2. Analysis of variance on the impact of salinity and ascorbic acid on seedling growth of rapeseed.

Çizelge 2. Tuzluluk ve askorbik asidin kolza'nın fide büyümesi üzerindeki etkisine ilişkin varyans analizi.

Treatment	df	RL		PL		RFW		PFW	
		Mean Square	LSD 0.05	Mean Square	LSD 0.05	Mean Square	LSD0.05	Mean Square	LSD0.05
Salinity	4	250.009***	0.100	6.741***	0.031	0.015***	0.002	0.076***	0.006
Priming	3	0.397***	0.100	0.011**	0.028	0.000017**	0.002	0.00002 n.s.	0.005
Salinity* Priming	12	0.363***	0.199	0.015***	0.062	0.00007***	0.004	0.0008***	0.011
Error	40	0.015		0.001		0.000001		0.00005	
CV (%)			2.152		3.331		4.076		2.788

***:p < .0001, **: p < .01, *:p < .05, n.s.: non-significance.

Table 2. (cont.) Analysis of variance on the impact of salinity and ascorbic acid on seedling growth of rapeseed.

Çizelge 2. (devamı) Tuzluluk ve askorbik asidin kolza'nın fide büyümesi üzerindeki etkisine ilişkin varyans analizi.

Treatment	df	SVI		STI	
		Mean Square	LSD0.05	Mean Square	LSD0.05
Salinity	4	3267844***	24.035	13984.2***	1.623
Priming	3	4963**	21.498	2.97 n.s.	1.451
Salinity * Priming	12	5151***	48.071	86.46***	3.245
Error	40	33943		3.87	
CV (%)			4.564		2.143

***:p < .0001, **: p < .01, *:p < .05, n.s.: non-significance.

The comparison of mean values of germination and seedling growth traits of rapeseed under five different salinity stress levels and priming treatment with four different levels of ascorbic acid (AsA) is presented in Table 3.

Table 3. Effects of salinity and ascorbic acid treatments on germination properties and seedling growth of rapeseed.

Çizelge 3. Tuzluluk ve askorbik asit uygulamalarının kolza tohumunun çimlenme özellikleri ve fide büyümesi üzerine etkileri.

Treatment	FGP (%)	GI	MGT (day)	RL (cm)	PL (cm)	RFW (g)	PFW (g)	SVI	STI (%)
Salinity (dS m ⁻¹)									
0.20	97.92a	120.50a	1.85d	10.258a	2.22a	0.084b	0.245c	1221.96a	100.00c
5.0	96.67a	118.00a	1.90d	9.897b	1.58b	0.098a	0.325a	1110.33b	130.74a
10.0	90.83b	102.17b	2.37c	5.875c	0.74c	0.055c	0.300b	601.12c	109.49b
15.0	82.92c	89.08c	2.63b	1.642d	0.56d	0.032d	0.209d	182.33d	74.74d
20.0	85.83c	81.17d	3.28a	0.363e	0.52e	0.014e	0.124e	75.70e	42.59e
AsA (mM)									
0	89.00	98.40b	2.51a	5.473c	1.09c	0.057a	0.242	616.69c	92.41
0.5	91.00	102.73a	2.38b	5.835a	1.14ab	0.057a	0.239	660.00a	91.54
1.0	90.67	102.27a	2.4ab	5.611b	1.15a	0.055b	0.240	643.45ab	91.28
2.0	92.67	105.33a	2.33b	5.509c	1.11bc	0.057a	0.241	633.00bc	92.28

Different letters within a column indicate significant differences.

FGP decreased significantly with increasing salinity, decreasing by 15.32% at 15.0 dS m⁻¹ compared with the control (Table 3). A relative increase was also observed for FGP at 20.0 dS m⁻¹. However, no statistically significant difference was observed for FGP between 0.20 and 5.0 dS m⁻¹ and between 15.0 and 20.0 dS m⁻¹.

The decrease in germination percentage with increasing salinity was due to the negative effects of salinity on physiological processes (Shahzad et al., 2019). However, the effects of priming with AsA and the interactions between salinity and priming on the FGP trait were not statistically significant (Figure 1a).

Increasing salinity significantly reduced GI (Table 1). At GI, no statistically significant difference was found between 0.20 and 5.0 dS m⁻¹. At 20.0 dS m⁻¹, a decrease of up to 33% was observed compared with the control. When the salinity × AsA interaction was examined, GI values of plants under salinity stress were significantly affected by AsA (Figure 1b). The highest GI value (125.33) was observed at 5.0 dS m⁻¹ and 1.0 mM AsA interaction, while the lowest GI value (70.0) was observed at 20.0 dS m⁻¹ salinity and 0 mM AsA interaction (Figure 1b). At 5.0 dS m⁻¹ salinity level, the application of 1.0 mM AsA resulted in a 9% increase in GI value compared to the control. However, when 2.0 mM AsA doses were applied at the highest salinity, the value of GI increased by 25% compared with the control. These results indicated that priming with AsA could reduce the negative effects of salinity stress in relation to GI. Baig et al. (2021) found that the GI value of wheat seeds significantly increased with AsA treatments under salinity conditions. These results agree well with those of Tanur and Yorganclar (2020). A high GI indicates that the strength of the seed is high (Maguire, 1962). This result means that treatments with AsA showed earlier and more synchronized germination than non-primed seeds (Baig et al., 2021).

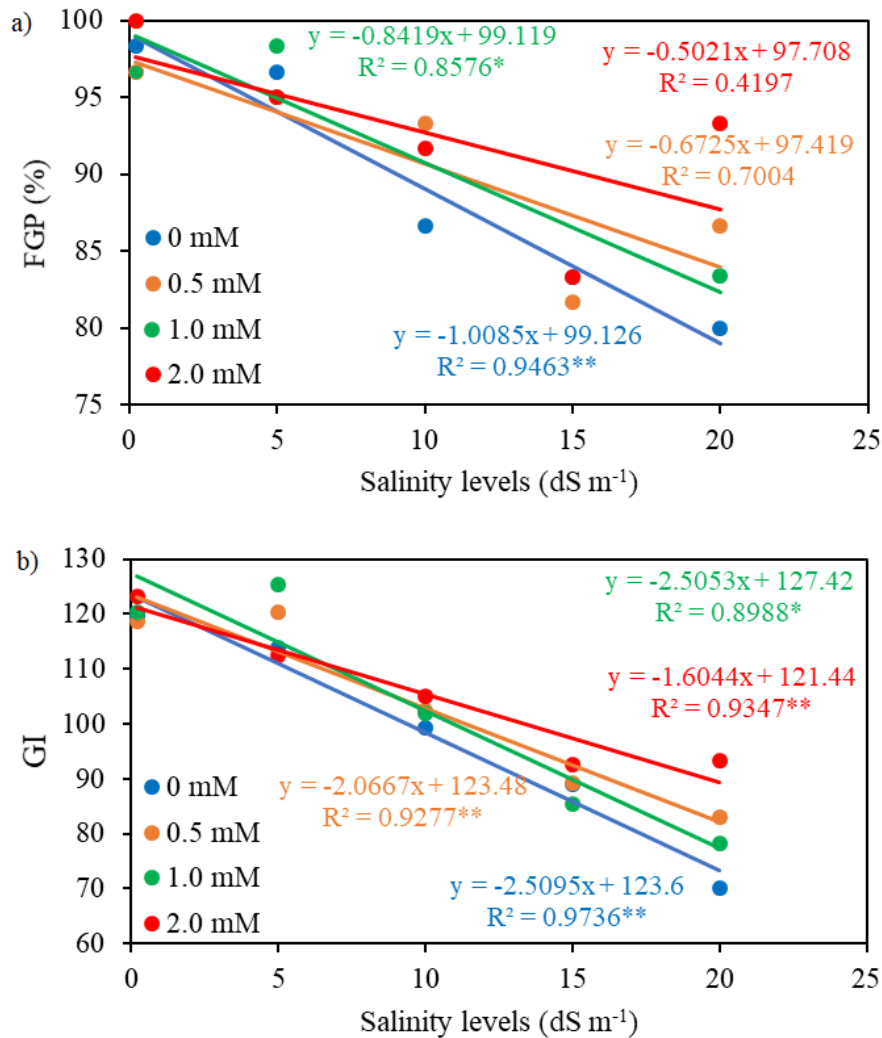


Figure 1. Impact of different salinity levels on primed rapeseed GI and FGP (** p < .01, *p<.05).
Şekil 1. Farklı tuzluluk seviyelerinin astarlanmış kolza tohumunun GI ve FGP üzerindeki etkisi (** p < .01, *p<.05).

GI was more affected by salinity than FGP. GI decreased by almost 42% at 20.0 dS m⁻¹, while FGP decreased by only 19% (Figure 1). An important reason for the higher sensitivity of GI to salinity than FGP could be the damage caused by salinity stress to the enzymes involved in germination (Feghhenabi et al., 2020). Flowers (1972) reported that 0.33 m NaCl inhibited malate and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities by up to 66% and 60%, respectively. On the other hand, El-Hawary et al. (2023) reported that treatment of seeds with AsA improved dehydrogenase and α-amylase activities compared with the control. The enzyme amylase in seeds mainly serves to initiate seed germination and activate seedling growth (Li et al., 2017).

Increasing salinity stress resulted in a significant prolongation of MGT (Table 3). Compared to the control (0.20 dS m⁻¹), an increase in salinity stress to 20.0 dS m⁻¹ prolonged the germination time by 77%. Gulzar and Khan, (2001) reported that increases in salinity generally delayed seed germination. Priming treatments also contributed to the shortening of germination time compared to the control. Considering the salinity × AsA interaction, at low salinity levels (0.2 and 5.0 dS m⁻¹), the average germination time of the treatments with 1.0 mM AsA dose was shorter than the control, while at other salinity levels, 2.0 mM dose significantly shortened the average germination time. The shortest MGT was 1.63 days at 5.0 dS m⁻¹ salinity and 1.0 mM AsA dose, whereas the longest MGT was obtained at 20.0 dS m⁻¹ salinity and 0 mM AsA dose (Figure 2). These results indicated that priming treatments applied under salinity conditions contributed significantly to reducing germination time. Seeds primed with different doses of AsA improved germination rate and uniformity with significantly higher GI and shorter MGT without affecting FGP compared to non-primed seeds.

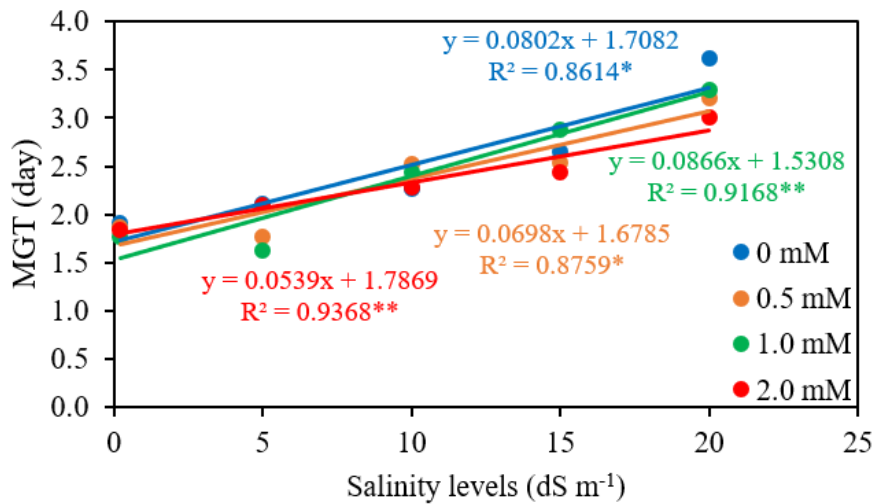


Figure 2. Impact of different salinity levels on primed rapeseed MGT (** p < .01, * p<.05).

Şekil 2. Farklı tuzluluk seviyelerinin astarlanmış kolza tohumunun MGT üzerindeki etkisi (** p < .01, * p<.05).

In the study, the values of RL, PL, RFW, PFW, SVI, and STI decreased significantly with increasing salinity. This could be due to the inhibition of water uptake by the saline conditions (Abdollahi and Jafari, 2012). This can also be caused by the toxic effect of Na⁺ and Cl⁻ ions on germination (Khajeh-Hosseini et al., 2003). At the highest salinity, the values of RL and PL decreased by 96.5% and 76.6%, respectively, compared to the control. Jamil et al (2006) reported that RL and PL are two important parameters in determining the sensitivity of seeds to salinity stress. Decreased root and stem growth with increasing salt stress may be attributed to ion toxicity and disproportionate nutrient uptake by seedlings (Bybordi and Tabatabaei, 2009). Several studies have reported that increasing salinity stress significantly reduces nutrient uptake and root and stem growth rates (Ajmal Khan and Gulzar, 2003). However, priming treatments with AsA significantly improved RL and PL. The highest improvement was observed at AsA doses of 0.5 mM for RL and 1.0 mM for PL. The higher AsA dose (2.0 mM) was toxic for both parameters. Regarding the interaction between salinity and priming, the effect of salinity on primed seeds was lower than the effect on non-

primed seeds. The results also showed that radicle length was more responsive to salinity stress than plumule length (Figure 3a, Figure 3b). In conclusion, low concentrations of AsA (0.5 mM) had a more beneficial effect on seedling growth than high concentrations. In general, treatment with AsA improved the growth characteristics of seedlings under salt stress by reducing oxidative stress.

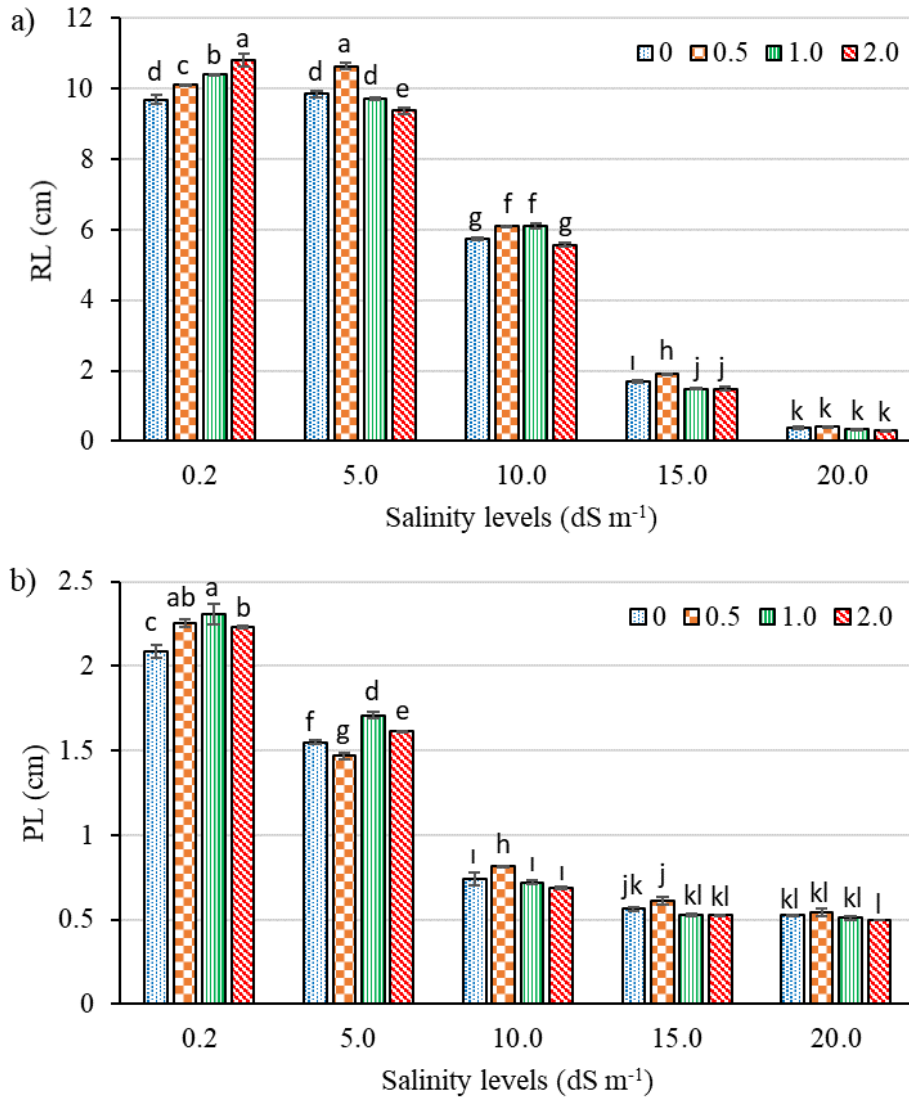


Figure 3. Impact of different salinity levels on primed rapeseed's RL and PL.
Şekil 3. Farklı tuzluluk seviyelerinin astarlanmış kolza tohumunun RL ve PL üzerindeki etkisi.

RFW and PFW values increased by 16.7% and 32.7%, respectively, at salinity level 5.0 dS m⁻¹ and decreased significantly at higher salinities (Table 3). Priming treatments with different doses of AsA had no significant effect on RFW and PFW traits. The interaction between salinity stress and ascorbic acid on RFW and PFW traits of rapeseed seedlings was highly significant ($p < .001$) (Table 2). The results show that all priming treatments improved RFW at a salt concentration of 5.0 dS m⁻¹ but not at higher NaCl concentrations. Similarly, PFW increased at all priming concentrations at 5.0 dS m⁻¹ compared to control salinity (0.20 dS m⁻¹), but decreased at other higher salt concentrations (Figure 4). It can be said that osmotic stress due to salinity stress causes this situation by preventing cell division and proliferation (Sezer et al., 2021). Anaya et al. (2018) reported that increasing salinity significantly decreased the fresh weight of broad bean

seedlings compared to the control, while 0.5 mM salicylic acid treatment improved fresh weight compared to salinity treatment.

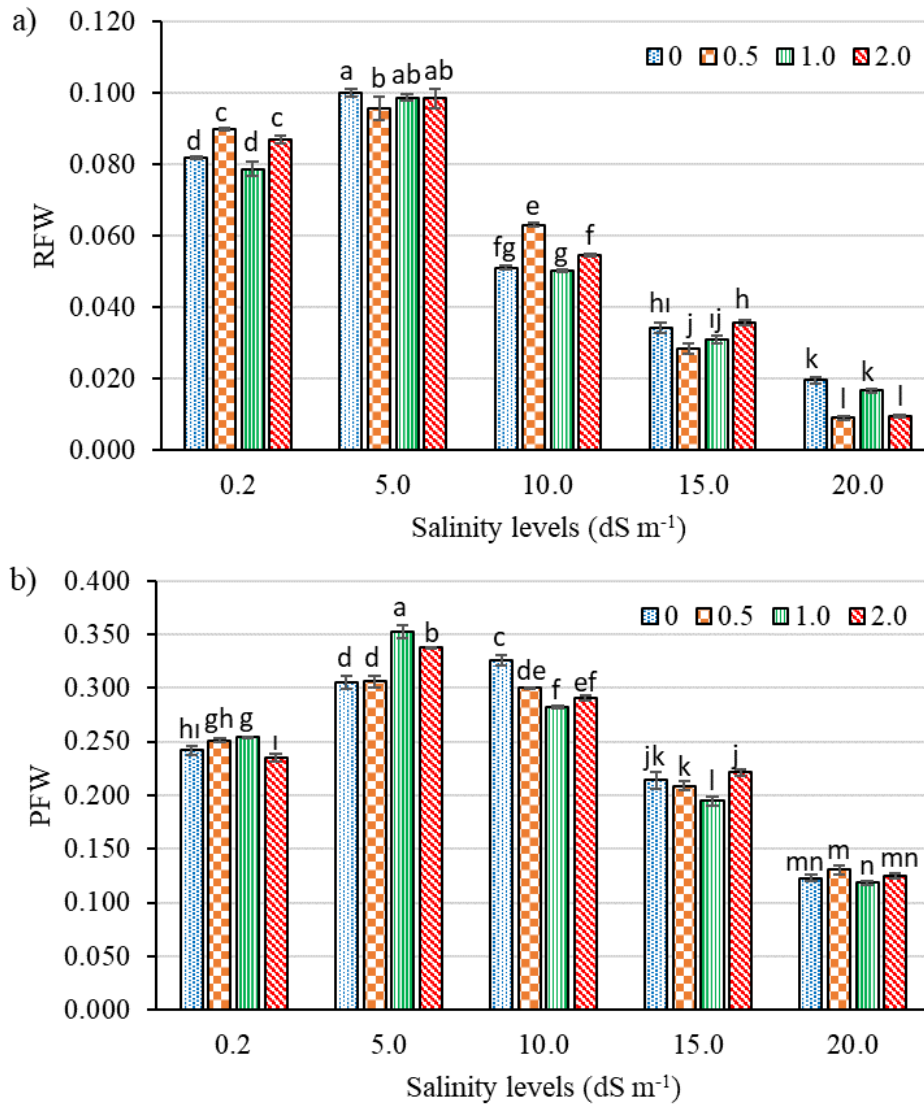


Figure 4. Impact of different salinity levels on primed rapeseed's RFW and PFW.

Şekil 4. Farklı tuzluluk seviyelerinin astarlanmış kolza tohumunun RFW ve PFW üzerindeki etkisi.

The increase in salinity from 5.0 to 20.0 dS m⁻¹ resulted in a gradual decrease in SVI (Figure 5a). The highest SVI value was obtained at the control, while the lowest SVI mean value (75.70) was obtained at the highest salt concentration of 20 dS m⁻¹. Kandil et al. (2015) reported that the vigor index of soybean seeds gradually decreased with increasing salinity levels. However, priming treatments with AsA resulted in significant improvement in seedling vigor (SVI). The highest improvement was obtained at 0.5 mM AsA concentration. It tended to decrease again with increasing AsA concentration (Table 3). Regarding salinity × AsA interactions, the highest SVI value (1303.95) was observed at control salinity and 0.5 mM AsA interaction, while the lowest SVI value (75.15) was observed at 20.0 dS m⁻¹ salinity and 1.0 mM AsA interaction (Figure 5a). Under salinity stress conditions, the highest SVI value (1170.74) was obtained from 0.5 mM dose AsA and 5.0 dS m⁻¹ treatments. At 5.0 dS m⁻¹ salinity, 0.5 mM AsA treatment increased SVI by 6.2% compared to control treatments, while at 20.0 dS m⁻¹ the increase was 14.5% compared to control. These results indicate that priming treatments on rapeseed seeds alleviated the negative effects of not very high salt stress on SVI compared to the control treatment. However, the effects of priming treatments on

seed vigor traits such as GI and SVI were more significant than their effects on FGP. This suggests that seed vigor, rather than the amount of germinating seeds under salt stress, is improved by priming with AsA (Chen et al., 2021). According to Chen et al. (2021), priming sorghum seeds with CaCl_2 improved seed vigor, which in turn contributed to the development of vigorous seedlings under salt stress.

Figure 5b shows the effect of different salinity concentrations on the STI of rapeseed seedlings for seeds primed with AsA. The STI value initially increased relatively with increasing salinity stress (at 5.0 dS m^{-1}) and decreased at higher salinity levels. The highest STI value was observed at 5.0 dS m^{-1} , and the lowest STI value was at 20.0 dS m^{-1} . Kiremit et al. (2017) investigated the germination characteristics of flax seeds under different salt concentrations and determined that salt tolerance indices decreased with increasing salt concentration. The effect of priming treatments on STI value was not statistically significant. When the interaction between salinity and priming was analyzed, the highest value for STI was 130.74% at a salt concentration of 5.0 dS m^{-1} and an AsA dose of 1.0 mM (Figure 5b). The lowest value was 41.46% when treated with $20.0 \text{ dS m}^{-1} \times 2.0 \text{ mM}$ AsA. Accordingly, when the salinity level was increased from 5.0 dS m^{-1} to 20.0 dS m^{-1} , the salt tolerance index of rapeseed seeds decreased by 93.0%. Overall, applying AsA at a dose of 0.5 mM increased the STI at all salinity levels for the canola preparation. As a result, seeds primed with 0.5 mM AsA produced seedlings with better tolerance to salt stress than the control. This finding is consistent with those of Mahdy et al. (2020).

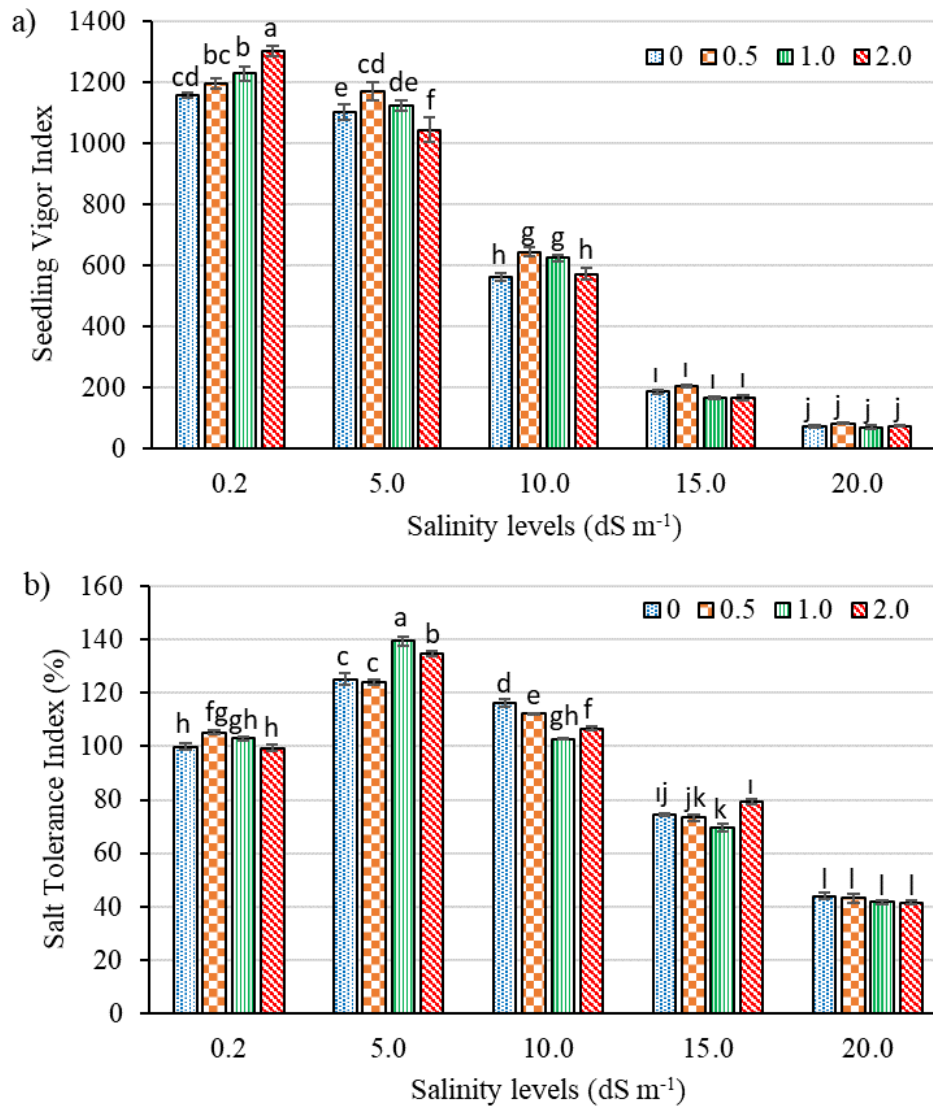


Figure 5. Impact of different salinity levels on primed rapeseed's SVI and STI.

Şekil 5. Farklı tuzluluk seviyelerinin astarlanmış kolza tohumunun SVI ve STI üzerindeki etkisi.

In general, germination and growth traits were found to be negatively affected by increasing salt concentration. 5.0 dS m⁻¹ NaCl concentration did not cause significant damage to seedling germination and growth traits but contributed to the improvement of some traits (PFW, RFW and STI). However, when the salinity stress increased to 10.0 dS m⁻¹, most of the investigated traits were significantly reduced.

CONCLUSION

Considering the general results of this study, salt stress was found to have an inhibitory effect on germination and some growth characteristics of rapeseed seeds. However, it was found that priming seeds with AsA improved seed germination and growth characteristics at different levels of salt stress. It was found that priming with AsA at appropriate doses improved seed growth traits, such as radicle and leaflet length, fresh weight, and seedling vigor index of rapeseed seeds. It was also concluded that priming could lead to the better and faster seedling establishment at the early stage, thus increasing the plant's tolerance to various stress conditions. Based on the results of this study, it is recommended to prime rapeseed with low AsA concentrations (0.50 mM) under low to high salinity stress conditions. However, to confirm the results of the present study and to investigate the effects of AsA application on yield and growth parameters of rapeseed under salt stress, field-level experiments are strongly recommended.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares no conflict of interest.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

Conceptualization, methodology, data acquisition, visualization, writing original draft writing review, and editing by author Sevda Taşan.

REFERENCES

- Abdollahi, F., & Jafari, L. (2012). Effect of NaCl and KNO₃ priming on seed germination of canola (*Brassica napus* L.) under salinity conditions. *International Journal of Agriculture, Research and Review*, 2(5), 573-579.
- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1970). Viability and Leaching of Sugars from Germinating Barley 1. *Crop science*, 10(1), 31-34.
- Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., John, R., Egamberdieva, D., & Gucel, S. (2015). Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system. *Frontiers in Plant Science*, 6, 868. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00868>.
- Ajmal Khan, M., & Gulzar, S. (2003). Germination responses of *Sporobolus ioclados*: a saline desert grass. *Journal of Arid Environments*, 53(3), 387-394. <https://doi.org/10.1006/jare.2002.1045>.
- Ali, L. G., Nulit, R., Ibrahim, M. H., & Yien, C. Y. S. (2020). Enhancement of germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa*) var. FARO44 by seed priming under normal and drought stressed conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 43(11), 1579-1593. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1739298>.
- Anaya, F., Fghire, R., Wahbi, S., & Loutfi, K. (2018). Influence of salicylic acid on seed germination of *Vicia faba* L. under salt stress. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.10.002>.
- Azeem, M., Sultana, R., Mahmood, A., Qasim, M., Siddiqui, Z. S., Mumtaz, S., Javed, T., Umar, M., Adnan, M. Y., & Siddiqui, M. H. (2023). Ascorbic and Salicylic Acids Vitalized Growth, Biochemical Responses, Antioxidant Enzymes, Photosynthetic Efficiency, and Ionic Regulation to Alleviate Salinity Stress in Sorghum bicolor. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10907-2>.
- Azooz, M. M., Alzahrani, A. M., & Youssef, M. M. (2013). The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 7(13), 2091-2100.
- Bahrabadi, E., Tavakkol Afshari, R., Mahallati, M. N., & Seyyedi, S. M. (2022). Abscisic, gibberellic, and salicylic acids effects on germination indices of corn under salinity and drought stresses. *Journal of Crop Improvement*, 36(1), 73-89. <https://doi.org/10.1080/15427528.2021.1908474>.
- Baig, Z., Khan, N., Sahar, S., Sattar, S., & Zehra, R. (2021). Effects of seed priming with ascorbic acid to mitigate salinity stress on three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Acta Ecologica Sinica*, 41(5), 491-498. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2021.08.010>.
- Batool, M., El-Badri, A. M., Hassan, M. U., Haiyun, Y., Chunyun, W., Zhenkun, Y., Jie, K., Wang, B., & Zhou, G. (2022). Drought stress in *Brassica napus*: effects, tolerance mechanisms, and management strategies. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 21-45. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10542-9>.

- Batool, N., Noor, T., Ilyas, N., & Shahzad, A. (2021). Salt stress impacts on seed germination and seedling growth of *Brassica napus* L. *Pure and Applied Biology*, 4(3), 398-406. <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2015.43016>.
- Bilska, K., Wojciechowska, N., Alipour, S., & Kalemba, E. M. (2019). Ascorbic acid – The little-known antioxidant in woody plants. *Antioxidants*, 8(12), 645. <https://doi.org/10.3390/antiox8120645>.
- Bybordi, A., & Tabatabaei, J. (2009). Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola cultivars (*Brassica napus* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2), 71-76. <https://doi.org/10.15835/nbha3723299>.
- Ceritoğlu, M., & Erman, M. (2020). Mitigation of salinity stress on chickpea germination by salicylic acid priming. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 6(3), 582-591. <https://doi.org/10.24180/ijaws.774969>.
- Chen, X., Zhang, R., Xing, Y., Jiang, B., Li, B., Xu, X., & Zhou, Y. (2021). The efficacy of different seed priming agents for promoting sorghum germination under salt stress. *PLoS one*, 16(1), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245505>.
- Çirka, M., Kaya, A. R., & Eryiğit, T. (2021). Influence of temperature and salinity stress on seed germination and seedling growth of soybean (*Glycine max* L.). *Legume Research*, 44(9), 1053-1059. doi: 10.18805/LR-628.
- El-Hawary, M. M., Hashem, O. S. M., & Hasanuzzaman, M. (2023). Seed Priming and Foliar Application with Ascorbic Acid and Salicylic Acid Mitigate Salt Stress in Wheat. *Agronomy*, 13(2), 493. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020493>.
- Fathi, N. O., & Gaafar, A. A. (2015). Growth Performance and Chemical Composition of Corn Seedlings (*Zea mays* L.) Under Salt Stress and Priming Conditions. *Alexandria Science Exchange Journal*, 36(3), 226-235. doi: 10.21608/asejaiqjsae.2015.2905.
- Feghhenabi, F., Hadi, H., Khodaverdiloo, H., & Van Genuchten, M. T. (2020). Seed priming alleviated salinity stress during germination and emergence of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agricultural Water Management*, 231, <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106022>.
- Flowers, T. J. (1972). The effect of sodium chloride on enzyme activities from four halophyte species of chenopodiaceae. *Phytochemistry*, 11(6), 1881-1886. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90147-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90147-X).
- Fujikura, Y., Kraak, H. L., Basra, A. S., & Karssen, C. M. (1993). Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. *Seed Science and Technology*, 21(3), 639-642.
- Ghoohestani, A., Gheisary, H., Zahedi, S. M., & Dolatkahai, A. (2012). Effect of seed priming of tomato with salicylic acid, ascorbic acid and hydrogen peroxide on germination and plantlet growth in saline conditions. *International Journal of Agronomy Plant Production*, 3, 700-704.
- Gulzar, S., & Khan, M. A. (2001). Seed germination of a halophytic grass *Aeluropus lagopoides*. *Annals of Botany*, 87(3), 319-324. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1336>.
- Hozayn, M., & Ahmed, A. A. (2019). Effect of magneto-priming by tryptophan and ascorbic acid on germination attributes of barley (*Hordeum vulgare*, L.) under salinity stress. *EurAsian Journal of BioSciences*, 13(1), 245-251.
- Jamil, M., Deog Bae, L., Kwang Yong, J., Ashraf, M., Sheong Chun, L., & Eui Shik, R. (2006). Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetable species. *Journal of Central European Agriculture*, 7(2), 273-282. <https://doi.org/10.5513/jcea.v7i2.370>.
- Kandil, A. A., Sharief, A. E., & Ahmed, Kh. R. (2015). Performance of some soybean *Glycine max* (L.) Merrill. cultivars under salinity stress to germination characters. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 6(3), 48-56.
- Khajeh-Hosseini, M., Powell, A. A., & Bingham, I. J. (2003). The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soyabean seeds. *Seed Science and Technology*, 31(3), 715-725. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.20>.
- Kiremit, M. S., Hacıkamiloğlu, M. S., Arslan, H., & Kurt, O. (2017). The effects of different irrigation water salinity levels on germination and early seedling development of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32(3), 350-357.
- Li, Z., Xu, J., Gao, Y., Wang, C., Guo, G., Luo, Y., Huang, Y., Hu, W., Sheteiwiy, M. S., Guan, Y., & Hu, J. (2017). The synergistic priming effect of exogenous salicylic acid and H₂O₂ on chilling tolerance enhancement during maize (*Zea mays* L.) seed germination. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1153. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01153>.
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176-177.
- Mahdavi, B., & Rahimi, A. (2013). Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum*) under salt stress. *EurAsian Journal of BioSciences*, 7, 69-76. <http://dx.doi.org/10.5053/ejobios.2013.7.0.9>.
- Mahdy, A. M., Sherif, F. K., Elkhatib, E. A., Fathi, N. O., & Ahmed, M. H. (2020). Seed priming in nanoparticles of water treatment residual can increase the germination and growth of cucumber seedling under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(12), 1862-1874. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1750647>.

- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).
- Molnár, K., Biró-Janka, B., Nyárádi, I. I., Fodorpataki, L., Varga, B. E., Bálint, J., & Duda, M. M. (2020). Effects of Priming with Ascorbic Acid, L-Cystein and Triacntanol on Germination of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Acta Biologica Marisiensis*, 3(2), 48-55. <https://doi.org/10.2478/abmj-2020-0010>.
- Moreno, C., Seal, C. E., & Papenbrock, J. (2018). Seed priming improves germination in saline conditions for *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus caudatus*. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 204(1), 40-48. <https://doi.org/10.1111/jac.12242>.
- Niu, J., Chen, Z., Yu, S., & Wang, Q. (2022). Ascorbic acid regulates nitrogen, energy, and gas exchange metabolisms of alfalfa in response to high-nitrate stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 24085–24097. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17672-3>.
- Perveen, S., & Hussain, S. A. (2021). Methionine-induced changes in growth, glycinebetaine, ascorbic acid, total soluble proteins and anthocyanin contents of two *Zea mays* L. varieties under salt stress. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(1), 131-142.
- Sezer, I., Kiremit, M. S., Öztürk, E., Subrata, B. A. G., Osman, H. M., Akay, H., & Arslan, H. (2021). Role of melatonin in improving leaf mineral content and growth of sweet corn seedlings under different soil salinity levels. *Scientia Horticulturae*, 288, 110376. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110376>.
- Shah, N., Anwar, S., Xu, J., Hou, Z., Salah, A., Khan, S., Gong, J., Shang, Z., Qian, L., & Zhang, C. (2018). The response of transgenic *Brassica* species to salt stress: a review. *Biotechnology Letters*, 40, 1159-1165. <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2570-z>.
- Shahzad, B., Fahad, S., Tanveer, M., Saud, S., & Khan, I. A. (2019). Plant responses and tolerance to salt stress. In *Approaches for enhancing abiotic stress tolerance in plants* (pp. 61-78). CRC Press.
- Tanur, M. & Yorgancılar, M. (2020). Tuz Stresine Maruz Bırakılan Kanola (*Brassica napus* L.)'da Priming Uygulamalarının (Salisilik Asit ve Askorbik Asit) Çimlenme Üzerine Etkisi . *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10 (4) , 3109-3121. <https://doi.org/10.21597/jist.757788>.
- Wan, H., Wei, Y., Qian, J., Gao, Y., Wen, J., Yi, B., Ma, C., Tu, J., Fu, T., & Shen, J. (2018). Association mapping of salt tolerance traits at germination stage of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Euphytica*, 214(190). <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2272-6>.
- Wang, Z., Song, L., Wang, C., Guo, M., El-Badri, A. M., Batool, M., Kuai, J., Wang, J., Wang, B., & Zhou, G. (2023). Rapeseed-maize double-cropping with high biomass and high economic benefits is a soil environment-friendly forage production mode in the Yangtze River Basin. *European Journal of Agronomy*, 142, 126675. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126675>.



Investigation of Yield and Yield Components of Some Flax (*Linum usitatissimum* L.) Varieties in Ankara Ecological Conditions

Bazı Keten (*Linum usitatissimum* L.) Çeşitlerinin Verim ve Verim Unsurlarının Ankara Ekolojik Koşullarında Araştırılması

Muhittin Bağcı¹ , Yusuf Arslan² , Mustafa Yaşar^{3*} , Berfin İşler⁴ , Sefa Ünal⁵ 

Received: 30.03.2023

Accepted: 14.07.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: This study was carried out to determine the effects of some flax varieties on yield and yield components in Ankara ecological conditions in 2021. The study was established with 10 flax varieties 3 replications according to the Randomized Complete Block Design. In the study, plant height (cm), first branch height (cm), number of branches per plant (pieces), number of seeds in the capsule (seed capsule⁻¹), 1000 seed weight (g), number of encapsulated branches per plant (pieces), oil yield (kg ha⁻¹), protein ratio (kg ha⁻¹) and seed yield (kg ha⁻¹) traits were examined. As a result of the research; There were statistically significant differences at the level of 1% between varieties in terms of yield and yield components. In the study, the highest seed yield, oil yield and protein yield (1806 – 599.7 – 428.5 kg ha⁻¹) were obtained from Clli-1412 variety.

Keywords: Flax, variety, seed yield, oil yield, protein yield

&

Öz: Bu çalışma, 2021 yılında Ankara ekolojik koşullarında bazı keten çeşitlerinin verim ve verim unsurları üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Çalışma, 10 adet keten çeşit ile tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Çalışmada, bitki boyu (cm), ilk dal yüksekliği (cm), yan dal sayısı (adet), kapsüldeki tohum sayısı (tohum kapsül⁻¹), 1000 tohum ağırlığı (g), bitki başına kapsüllü dal sayısı (adet), yağ verimi (kg ha⁻¹), protein verimi (kg ha⁻¹) ve tohum verimi (kg ha⁻¹) özellikleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda; çeşitler arasında, verim ve verim unsurları bakımından istatistikî olarak %1 düzeyinde önemli farklılıklar bulunmuştur. Çalışmada, en yüksek tohum verimi, yağ verimi ve protein verimi (1806 – 599.7 – 428.5 kg ha⁻¹) Clli-1412 çeşidinden elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Keten, çeşit, tohum verimi, yağ verimi, protein verimi

Cite as: Bağcı M., Arslan Y., Yaşar M., İşler B., Ünal S. (2023). Investigation of Yield and Yield Components of Some Flax (*Linum usitatissimum* L.) Varieties in Ankara Ecological Conditions. International Journal of Agriculture and Wildlife Science. 9 (2), 252-261. doi: 10.24180/ijaws.1274182

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Dr. Muhittin BAĞCI, Field Plants Central Research Institute, muhittin.bagci@tarimorman.gov.tr

² Assoc. Prof. Dr. Yusuf ARSLAN, Bolu Abant İzzet Baysal University, Department of Field Crops, yusuf.arslan@ibu.edu.tr

³ Assist. Prof. Dr. Mustafa YAŞAR, Muş Alparslan University, Department of Plant Production and Technologies University, mustafa.yasar@alparslan.edu.tr (Corresponding author)

⁴ Berfin İŞLER, Bolu Abant İzzet Baysal University, Graduate School of Education, Department of Field Crops, 35818286292@ibu.edu.tr

⁵ Sefa ÜNAL, Field Plants Central Research Institute, sefa.unal@tarimorman.gov.tr

* If the study was produced from the thesis, it should be mentioned in this section. The text should be written in "Palatino Linotype" font, 7 points and single line spacing.

INTRODUCTION

Flax (*Linum usitatissimum* L.) is an annual, herbaceous and highly (95%) self-pollinating species belonging to the Linaceae family (Yıldırım and Arslan, 2013; Öksüz et al., 2015; habi et al., 2019; Keskin and et al., 2020; Landoni et al., 2020; Talebi and Matsyura, 2021; Yaşar, 2023). Its spread in the world is between the Middle East, the North and Southwest of America and the Mediterranean basin, but its origin is reported to be Ethiopia, Central Asia and India (Habibollahi et al., 2016; Choudhary et al., 2017; Singh et al., 2017). Goudenhoofft et al., 2018; Landoni et al., 2020; Nag et al., 2020; Xie et al., 2020; Talebi and Matsyura, 2021).

The oldest evidence of human use of flax in weaving is reported to be spun, dyed and knotted wild flax fibers from 30,000 years ago found in Dzudzuana Cave in Georgia (Anonymous, 2010; Balter, 2009; Kvavadze, 2009). However, it is thought that the cultivation of flax took place in Mesopotamia much later (Fu, 2011). In this regard, it is reported that coarse-grained flaxseed found in the Tell Ramad region in Syria and approximately 9000 years old linen fabric fragments in Çatalhöyük in Turkey (Fu, 2011; Anonymous, 2013). It is reported that it then spread to different parts of the world and reached as far as Switzerland, Germany, China and India 5000 years ago (Barber, 1991; Cullis, 2007). It is known that there were floral flax paintings on the temple walls of Ancient Egypt and that mummies were mummified using flax (Sekhri, 2011). It is also reported that Egyptian priests at that time wore only linen, as it was considered a symbol of purity (Wisseman and Williams, 1994). It is reported that Egyptian flax was first traded by the Phoenicians in the Mediterranean and the Romans used fabrics and ropes obtained from linen on their ships (Buchanan, 2012). After the decline of the Roman Empire, the demand for linen decreased, which led to a decrease in its production. However, M.S. In the 8th century, the fabric and oil obtained from linen began to be in demand again and its production became popular again (Wisseman and Williams, 1994). With the discovery of America, flaxen was brought here as well and became popular (Cullis, 2007). However, at the beginning of the 20th century, with the popularity of the cotton plant and due to the increasing costs, the production shifted mainly to Russia (Anonymous, 2003). Today, France takes the lead in fiber linen production with 141.350 ha, followed by Russia with 45.390 ha. Turkey's flax cultivation area is very small and is 8 ha. According to the FAO data for 2020, the total cultivation area of fiber flax was 285.418 ha, while the average fiber yield was 3419 kg ha⁻¹ and the production was 976.113 tons.

Flax (*Linum usitatissimum* L.) is a multi-purpose plant due to its many benefits in both human and animal nutrition (Yaşar and Yetişsin, 2023). At the same time, the seeds are consumed by grinding directly, as well as oil is obtained from the seeds. The seed or oil flax cultivation area was 3.5 million ha, the average seed yield was 951.2 kg ha⁻¹ and production was 3.4 million tons. Kazakhstan takes the lead in flaxseed production with 1.1 million tons, followed by Russia with 788 thousand tons, Canada ranks third with 578 thousand tons (FAO, 2020). It is seen that flax production is mostly done for seed production today. The fact that flaxseed is used as a food supplement for weight loss, its oil is used in the wood and furniture industry because it is in the class of drying oils, and it is included in bird feed mixtures increases the demand for flaxseed.

Today, the reason why it is consumed directly is due to its high nutritional properties and because it is a good diet product. It is reported that there are approximately 534 kilocalories of energy, 41 g of fat, 28 g of fiber and 20 g of protein in 100 grams of ground flaxseed (Flax Council of Canada, 2022). The omega-3 (especially alpha-linolenic acid) ratio in its oil is high. Omega-3 fatty acid is one of the essential fatty acids and is a fatty acid with high health effects (Sargi et al., 2013). The shelf life of flax oil is very short due to the excess of unsaturated acids it contains. It should be consumed fresh as it oxidizes very quickly. In the same way, if the seed is to be consumed by ground, it should be ground fresh and consumed without waiting too long. Otherwise, the oil will undergo oxidation in a short time. It is also grown as an ornamental plant due to its beautiful blue flowers.

Fiber flax performs particularly well in the temperate climate zone with abundant rainfall, while oil flax performs better in regions with relatively warmer temperatures and sufficient rainfall. For fiber production, especially in the Black Sea belt, if it is to be grown for oil or seed, it would be more appropriate

to grow it in the inner regions. The flax cultivation area of our country, which has a high potential for both flax types, is quite low.

The main purpose of this study is to see the effect of genotype and environment in terms of seed yield obtained from Ankara ecological conditions in flax varieties, to determine stable varieties, and to both make a variety suggestion and contribute to breeding studies.

MATERIAL AND METHOD

In the study, 10 varieties of flax were used as material. Some information about the varieties is given in Table 1 (Yaşar, 2023; Yaşar and Yetişsin, 2023), information about the location is given in Table 2 and climate data is given in Table 3.

Table 1. Some information about the varieties.

Çizelge 1. Çeşitler hakkında bazı bilgiler.

Genotype name	1000 Seeds Weight (g)	Flower Color	Seed Color	Oil Rate (%)	Orjin	Growing Season
Sarı 85*	5.40	white	yellow	37.7	Türkiye	Spring
Larnaka*	5.40	blue	darkbrown	37.3	Pakistan	Winter
Milas*	6.20	blue	lightbrown	36.2	Türkiye	Winter
Newtürk*	5.40	blue	darkbrown	37.1	U.S.A	Spring
Dillman*	5.20	Lightblue	brown	32.3	U.S.A	Winter
Clli-1351*	6.18	blue	lightbrown	34.8	Türkiye	Winter
Clli-1400*	6.18	blue	brown	38.2	Türkiye	Spring
Clli-1412*	6.15	lightblue	brown	35.3	Türkiye	Spring
Clli-1370*	5.69	blue	brown	35.0	Türkiye	Spring
Clli-1423*	5.76	blue	brown	34.6	Türkiye	Spring

*The seeds used in the experiment were supplied by the United States Department of Agriculture (USDA). Yaşar, 2023 and Yaşar ve Yetişsin, 2023.

Table 2. Location information

Çizelge 2. Lokasyon koordinatları.

Location	Altitude (m)	Latitude	Longitude
TARM/ANKARA	840	39°57'19.58"K	32°48'51.31"D

Table 3. Climate data of the location.

Çizelge 3. Lokasyon iklim verileri.

Months	Average Temperature (°C) 2020-2021	Average Temperature (°C)	Average Precipitation (mm) 2020-2021	Average Precipitation (mm)
October	16.8	11.5	22.2	22.7
November	5.4	5.7	3.8	29.1
December	4.7	0.9	19.2	37.7
January	2.0	-0.9	59.9	36.3
February	2.8	1.0	13.1	34
March	2.6	5.1	72.2	35.7
April	9.3	9.7	35.4	40.2
May	16.5	14.4	19.2	46.9
June	15.9	18.1	51.6	35.7
Total			296.6	318.3

Source: General Directorate of Meteorology-Ankara.

When the climate data from the experimental area is examined, there is not much difference between the average temperature in the year of the experiment and the average temperature over many years. However.

while the annual total precipitation for the long-term average was 318.3 mm the total precipitation amount in the trial year was 296.6 mm.

Table 4. Trial area soil properties.

Çizelge 4. Deneme alanı toprak özellikleri.

Depth (cm)	Soil Constituency Class	pH	Salinity (dS m ⁻¹)	Lime (%)	Organic Matter (%)	Available Phosphorus P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)
0-40	CL	7.38	1.18	28	1.63	97

When the results in Table 4 are examined; the soil is clayey-loamy. poor in organic matter 1.63%. the amount of available phosphorus is 9.7% it has a slightly alkaline (pH=7.7- 7.8) and calcareous soil (28%) and the salt content is low (1.18 dS m⁻¹).

The study was established in the field of Ankara Field Crops Central Research Institute in 2021 with 10 varieties according to the Randomized Complete Block Design with 3 replications (Açıkgöz, 1993). In the experiment row spacing was 20 cm plot length was 4 m and 6 rows were planted on April 5. 2021 (Tunçtürk, 2007). Trial sowing was done manually on the opened incisors. In the experiment. organomineral fertilization was made at a rate of 100 kg per hectare. Weed hoeing was done when the plants were 10-12 cm. The experiment was irrigated twice, one as emerged and the other before flowering.

The harvest of the experiment was done on August 20. 2021. during the yellow ripening period. In the harvest, one row from each side and 0.5 m from the ends of the parcels were not harvested as an edge effect (Tunçtürk, 2007). In addition, 10 plants were taken from the harvest area of each parcel before harvesting, plant height, first branch height, number of branches per plant, number of seeds in the capsule, 1000 seed weight and number of encapsulated branches per plant were determined. Seed yield per hectare was determined from the product obtained from the harvest area. The oil ratio to be used in the calculation of the oil yield and the protein ratio to be used in the calculation of the protein yield were examined from the seeds of 10 plants taken from the plots.

Fixed oil ratio analyses were performed using the Soxhlet device and protein ratio analyses were performed using the Kjeldahl method. Statistical analyzes of the obtained values were made using the 'JMP' statistical program and the differences between the averages were tested with the Duncan multiple comparison method.

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of the variance table (Table 5) of the values of the properties examined in the experiment and the table of the mean values and the formed groups (Table 6) are given below.

Table 5. Analysis of the variance table of the values of the traits examined in the trial.

Çizelge 5. Denemede imcelenen özelliklerin varyans analiz tablosu.

Variation Sources	DF	Plant height	Number of seeds in the capsule	Number of branches per plant	Number of encapsulated branches per plant	First branch height	1000 seed weight	Seed yield	Oil yield	Protein yield
Replication	2	7.687**	0.132	0.3*	2.916*	4.908	0.022	298.3	51.538	1.817
Varieties	9	30.039*	0.677*	0.59**	3.426**	4.307	0.192	1213.42*	128.14	58.991*
Error	18	0.383	0.246	0.06	0.603	2.329	0.114	447.74	53.146	23.14
Total	29	10.09**	0.372	0.24**	1.638**	3.121	0.132	675.06	76.311	32.796
CV (%)		1.08	4.16	5.82	2.82	6.02	6.38	14.57	14.97	14.70

** $p < 0.01$. * $0.01 < P < 0.05$. CV: coefficient of variation; DF: degrees of freedom

When Table 5, where variance analysis values of the experiment are given, is examined, the difference between the number of branches per plant and number of encapsulated branches per plant values of the varieties is statistically significant at the level of 1%, the plant height, number of seeds in the capsule, seed yield and protein yield values are statistically significant at the 5% level and the difference between the values obtained from first branch height, 1000 seed weight and oil yield is significant, appears to be statistically insignificant.

Table 6. Mean values of the traits examined in the experiment and the resulting groups.

Çizelge 6. Denemede incelenen özelliklerin ve elde edilen grupların ortalama değerleri.

Varieties	Plant height (cm)	Number of seeds in the capsule	Number of branches per plant	Number of encapsulated branches per plant	First branch height (cm)	1000 seed weight (g)	Seed yield (kg ha ⁻¹)	Oil yield (kg ha ⁻¹)	Protein yield (kg ha ⁻¹)
Newtürk	63.5 ^a	12.7 ^a	5.1 ^a	28.3 ^{ab}	27.93	5.73	1313 ^c	463.9	303.3 ^b
Clli-1370	61.3 ^b	12.3 ^{ab}	4.2 ^{b-d}	29.1 ^a	25.5	5.16	1520 ^{ac}	510.4	294.9 ^b
Clli-1351	59.1 ^c	11.8 ^{bc}	4.3 ^b	27.1 ^{bc}	24.43	5.26	1400 ^{bc}	467.6	341.4 ^b
Sarı 85	56.8 ^d	12.3 ^{ab}	3.8 ^d	26.2 ^c	26.33	5.36	1540 ^{ac}	514.8	353.0 ^{ab}
Larnaka	55.5 ^e	11.8 ^{bc}	4.2 ^{bc}	27.2 ^{bc}	25.93	5.1	1216 ^c	391.2	288.7 ^b
Clli-1423	55.5 ^e	11.5 ^{bc}	4.0 ^{bd}	27.4 ^{bc}	24.36	4.96	1450 ^{ac}	478.7	306.3 ^b
Clli-1400	55.3 ^{ef}	11.0 ^c	3.9 ^{cd}	26.3 ^c	24.06	5.4	1736 ^{ab}	576.9	361.4 ^{ab}
Milas	54.9 ^{ef}	11.7 ^{bc}	4.3 ^b	28.9 ^a	24.6	5.33	1273 ^c	433.4	302.3 ^b
Clli-1412	54.7 ^{ef}	11.5 ^{bc}	4.1 ^{bd}	26.2 ^c	25.7	4.93	180.6 ^a	59.97	428.5 ^a
Dillman	54.2 ^f	12.0 ^{ab}	5.0 ^a	27.9 ^{ab}	24.46	5.56	126.3 ^c	42.96	292 ^b

When the values in Table 6 are examined, it is seen that there are six different groups in plant height values, the highest plant height was obtained in Newtürk variety with 63.5 cm, while the lowest plant height was obtained in Dillman variety with 54.2 cm. When studies on flax are examined, it is seen that the plant height is in the range of 30-70 cm (Gilbertson, 1993; Karaaslan and Tonçer, 2001; Akçalıcan et al., 2003; Tunçtürk, 2007; Yıldırım and Arslan, 2013; Güngör, 2020; Kushwaha et al., 2019; Aydın, 2020). In the study of Taddese and Tenaye (2018) in Ethiopia to see the effect of nitrogen on flax fiber yield, the plant height was obtained as 53.6-62.9 cm. It is seen that these obtained values give results at the same level as in the study. The values of 38.9-47.4 cm were reported by Güngör (2020) in the study carried out with the Sarı-85 variety by applying different nitrogen and phosphorus levels. were obtained. Tunçtürk and Tunçtürk (2021) reported that plant height in the Sarı-85 variety was between 36.9 and 44.1 cm when they investigated the effects of different planting times and phosphorus doses on flax yield and quality traits. It is seen that the values obtained in the studies are less than the values obtained in our study. It is reported that increasing plant height can increase the yield of the plant and the quality of the product. as it increases the number of branches and surface area in the plant and increases the production of dry matter in the plant due to the increase in the surface where photosynthesis takes place (Fischer and Maurer, 1978; Salisbury and Ross, 1985). It is reported that 50-70 cm plant height is suitable for oil flax (Karaaslan and Tonçer, 2001). It is reported that a plant height of 40-65 cm is more suitable for oilseed flax genotypes (Ali et al., 2016; Maurya et al., 2017).

Branching in oil flax is one of the traits that directly affect the seed yield (Endes, 2010; Kara, 2014). Although branching is a genotypic trait in flax. It can vary depending on the sowing density. In dense sowing, plants may compete with each other for growth and form less encapsulated branches. On the contrary. in sparse sowing. If sufficient environmental conditions are available, the plant can create many branches in accordance with its existing genetic potential (Endes, 2010; Örs and Öztürk, 2018; Han, 2019; Aydın, 2020). The highest branch number value of 5.1 per plant was observed in the Newtürk variety. The lowest branch number value was obtained from Sarı 85 variety with 3.8 per plant and all the values obtained were statistically in four different groups. appears to have formed. The values obtained from the study were higher than Tunçtürk's (2007) 3.4 -3.7 per plant, lower than the 6.1 -11.6 per plant value of Han (2019) and

Güngör (2020) were found to be compatible with 3.9 -5.8 per plant and 4.4 -7.2 per plant for Kushwaha et al. (2019).

Studies show that the number of encapsulated branches in the flax plant can vary between 1-43 and can vary with the effect of genetic structure and environmental factors (Bazzaz and Harper, 1976; Gubbels, 1978; Elsahookie, 1978; Yıldırım, 1998; Gabiana et al., 2005; Hall et al., 2016; Aydın, 2020). When the environmental conditions are sufficient for the variety, the yield is expected to increase in parallel with the increase in the number of encapsulated branches. When Table 6 is examined, it is seen that the number of encapsulated branches is in parallel with the yield values. In the study, three different groups were formed in the number of encapsulated branches per plant and the highest number of encapsulated branches was obtained in Clli 1370 with 29.1 while the lowest number of encapsulated branches was obtained in Clli 1400 with 26.3. The obtained values support the studies carried out.

Seed yield is one of the most considered selection criteria for field crops grown for seed. Seed yield is a trait that is affected by more than one factor. Many studies are showing that this situation is valid for the flax plant (Bazzaz and Harper, 1976; Elsahookie, 1978; Khurana and Dubey, 1988; Yıldırım, 2005; Tunçtürk, 2007; Smykal et al., 2011; Kara, 2014; Güngör, 20209; Han, 2019; Asadi et al., 2019; Kushwaha et al., 2019; Aydın, 2020). The study found three groups of seed yield, with Clli 1412 variety having the highest yield with 1806 kg ha⁻¹, while the lowest seed yield was obtained in Larnaca variety with 1216 kg ha⁻¹. Data from the study, Ghatak et al. (1990) 311-579 kg ha⁻¹, Uzun (1992) 591-799 kg ha⁻¹, Bassi and Badiyala (1992) 566-931 kg ha⁻¹, Diri (1996) 234 -1235 kg ha⁻¹ and Geleta (1999) 459-521 kg ha⁻¹, Asadi et al. (2019) 315-945 kg ha⁻¹, Güngör (2020) 244-460 kg ha⁻¹, Han (2019) 729-1429 kg ha⁻¹, Kurt et al. (2005) 1097-2747 kg ha⁻¹ values, İncekara (1979)'s 400-1500 kg ha⁻¹, Dorell (1973)'s 500-1400 kg ha⁻¹, Elsahookie (1978)'s 1261-1380 kg ha⁻¹, Gubbels (1978)'s 1000- 1410 kg ha⁻¹, Singh et al. (1985) 981-1930 kg ha⁻¹, Popa (1986) 1250-1850 kg ha⁻¹, Tabara (1987) 1360-1750 kg ha⁻¹, Khurana and Dubey (1988) 830 -1064 kg ha⁻¹, Gubbels and Kenaschuk (1989) 1100-1240 kg ha⁻¹, Awasthi et al. (1989) 868-1246 kg ha⁻¹, Khander and Sharma (1990) 800-1950 kg ha⁻¹, Yadav et al. (1990) 810-1270 kg ha⁻¹. Dubey and Singh (1994) 1040-1590 kg ha⁻¹. Qiang and Mi (1996) 729-1425 kg ha⁻¹, Yıldırım (1998) 400-1630 kg ha⁻¹, Kushwaha et al. (2019) 1333-1695 kg ha⁻¹ and Aydın (2020) 573-1898 kg ha⁻¹ It was consistent with the values.

Seed yield and oil ratio are two factors that together determine oil yield. Any factor that affects one or both of these factors will also affect oil yield. Both seed yield and oil ratio are traits that are highly affected by environmental conditions as well as genetic structure. In fact, the plant has a genetic capacity and this capacity is fully revealed only with the effect of suitable environmental conditions. In other words, as environmental conditions change in a negative way. These two traits are affected in the same way in parallel. As a result, oil yield is negatively affected. When the values obtained from the study are examined, it is seen that the oil yield varies between 391.2 kg ha⁻¹ to 599.7 kg ha⁻¹, although there was no statistical difference between the varieties, the highest value was obtained from Clli 1412 variety and the lowest value was obtained from Larnaca variety. Obtained oil yield values are higher than Tunçtürk (2007)'s 376 -399 kg ha⁻¹, Güngör (2020)'s 55 -173 kg ha⁻¹ and Asadi et al.(2019)'s 108 -325 kg ha⁻¹, It was found to be compatible with Han (2019)'s value of 214 -601 kg ha⁻¹.

Protein yield directly affects seed yield and protein ratio. Increasing either or both of these will naturally increase the amount of protein yield to be obtained from the hectare. When evaluated from this point of view, if the protein ratio of the variety with the highest seed yield is at an acceptable level, it is expected that the protein yield will be high. When the protein yield values are examined, it is seen that the highest value was obtained in Clli 1412 variety with 428.5 kg ha⁻¹, the lowest value was obtained in Dillman variety with 292.0 kg ha⁻¹ and the values obtained from the study statistically formed two different groups. The obtained values were found to be higher than Tunçtürk's (2007) 215 -234 kg ha⁻¹ and Aydın (2020) 221 -280 kg ha⁻¹ values. This can be explained by the effect of genotype × environment interaction.

1000 seed weight is an important selection criterion in cultivated plants grown for their seeds and it is a desired trait to be high (Vollman and Rajcan, 2009; Kara, 2014). Although 1000 seed weight is a genotypic trait, it may decrease with the effect of insufficient environmental conditions or the effect of densing

sowing. When the values obtained from the study are examined, it is seen that the highest 1000 seed weight was obtained from Newtürk variety with 5.73 g and the lowest 1000 seed weight was obtained from Clli 1412 varieties. although there was no statistical difference between the varieties. Data obtained from the study, Ghanbari-odivi et al. (2013) 5.0-5.3 g Yıldırım (2005) 3.5-7.2 g Diri (1996) 5.3-7.0 g and Aydın (2020) 4.8-7.1 g, It is compatible with values.

It is reported that the capsule of the flax plant is genetically composed of 2 compartments. each compartment consists of 5 carpels. and a capsule can produce 10 seeds (Durrant, 1976; İncekara, 1979). In addition, it is reported that the number of seeds in the capsule of the flax plant can vary with the effect of genetic structure and environmental conditions (Akçalıcan et al., 2003; Bozkurt and Kurt, 2007). According to the results obtained from the study, three different groups were formed in the values of the number of seeds in the capsule. and the highest number of seeds was obtained in Newtürk variety with 12.7, while the lowest number of seeds was obtained in Clli 1400 variety with 11.0. These values are 7.0-7.2 by Elshookie (1978), 6.0-8.0 by Crowley (1988), 6.1-7.1 by Khurana and Dubey (1988), Yadav et al. (1990) 6.1-8.1 and Yıldırım (2005) 8.0-9.0.

Although the height of the first branch differs according to the fiber and oil types. In general, in terms of suitability for machine harvesting, the first branch height in oil flax is desired to be at a height where the combined harvester table can harvest the encapsulated branches. On the other hand, an increase in the number of branches in oily varieties will lead to an increase in seed yield due to an increase in the number of capsules in fiber flax. On the other hand, since the aim is not seed yield, starting branching from above is a desirable feature in terms of increasing the technical stem length (Yıldırım and Arslan, 2013; Kara, 2014). Studies on oil flax show that the height of the first branch is between 12-45 cm (Gubbels, 1978; Diepenbrock and Iwerson, 1989; Endes, 2010; Kara, 2014; Örs and Öztürk, 2018; Aydın, 2020). Although there was no statistical difference between the varieties, the highest number of branches was obtained in the Newtürk variety with 5.1 while the lowest number of branches was obtained in the Sarı 85 variety with 3.8. Although there was no statistical difference between the varieties, the highest number of branches was obtained in the Newtürk variety with 5.1 while the lowest number of branches was obtained in the Sarı 85 variety with 3.8. The first branch height is a genetic trait, but it is a trait that can be affected by environmental conditions, especially dense sowing.

CONCLUSION

When the 10 flax varieties were evaluated as a whole in terms of the investigated traits in Ankara ecological conditions, the highest seed yield (1806 kg ha⁻¹), oil yield (599.7 kg ha⁻¹) and protein yield (428.5 kg ha⁻¹) were obtained in Clli 1412 variety. This was followed by Clli 1400 cultivars with 1736 kg ha⁻¹ seed yield, 361.4 kg ha⁻¹ oil yield and 361.4 kg ha⁻¹ protein yield. However, it was concluded that all varieties used in the study can be recommended in Ankara ecological conditions in terms of yield and yield components.

CONFLICT OF INTEREST

The author(s) declare that there is no conflict of interest under this title.

DECLARATION OF AUTHOR CONTRIBUTION

The author(s) contributed equally under this title.

REFERENCES

- Açıkgöz, N. (1993). *Tarımda Araştırma ve Deneme Metotları*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 478. Bornova. İzmir. 310s. (in Turkish).
- Akçalıcan, R. R., Yüce, S., Aykut, F., & Furan, M. A. (2003). *Ketende bazı agronomik özellikler arası ilişkiler*. Türkiye 5. Tarla Bitkileri Kongresi 13-17 Ekim 2003 Diyarbakır. (in Turkish).
- Ali, M., Hasan, F. U., & Afzal, M. (2016). Response of Linola (*Linum usitatissimum* L.) to Different Spacings under Rainfed Conditions. *Cercetari Agronomice in Moldova*. 2 (166): 87-96.
- Anonymous, (2003). "The Oxford Encyclopedia of Economic History. Volume 1" Oxford University Press. p.303.
- Anonymous, (2010). "These Vintage Threads Are 30.000 Years Old". NPR.org. NPR. Archived from the original on 2010-12-04. Retrieved 2010-11-13.
- Anonymous, (2013). Çatalhöyük 2013. Archive Report (Report).

- Asadi, S., Rezaei-chiyaneh, E., & Amirnia, R. (2019). Effect of planting pattern and fertilizer source on agronomic characteristics of linseed (*Linum usitatissimum* L.) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) in intercropping under rainfed conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 21(1). 16-30.
- Awasthi, U. S., Girish, J. H. A., Namdeo, K. N., Shukla, N. P., & Rohan, S. (1989). Response of Linseed (*L. usitatissimum* L.) to Nitrogen and Rhoosphorus Levels. *Indian Journal Agronomy*. Vol. 34(4). p.432-433.
- Aydın, D. (2020). Farklı dönemlerde yapılan sulamanın yağlık keten (*Linum usitatissimum* L.) çeşitlerinde verim, verim unsurları ve kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi. [Doktora Tezi. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü]. (in Turkish).
- Balter, M. (2009). "Clothes make the (Hu) Man". *Science*. 325(5946): 1329. doi:10.1126/science.325_1329a. PMID 19745126.
- Barber, E. (1991) "Prehistoric Textiles: The Development of Cloth in the Neolithic and Bronze Ages with Special Reference to the Aegean". Princeton University Press. p.12.
- Bassi, K., & Badiyala, D. (1992). Effect of Seed Rate and Nitrogen on Fibre and Seed Yields of Linseed (*Linum usitatissimum*) in Himachol Pradesh. *Indian Journal of Agricultural Science*. 62(5): 341-342.
- Bazzaz, F. A., & Harper, J. L. (1976). Demographic Analysis of the Growth of *Linum usitatissimum*. *New phytologist*. 78: 193- 208.
- Bozkurt, D., & Kurt, O. (2007). Effects of Sowing Time and Soil Temperature on Yield and Yield Components of Linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Anadolu Journal of Agricultural Sciences (Turkey)*, 22 (1) : 20-25.
- Buchanan, R. (2012) "A Weaver's Garden: Growing Plants for Natural Dyes and Fibers". Courier Dover Publications. p. 22.
- Choudhary, S. B., Sharma, H. K., Kumar, A. A., Maruthi, R. T., Mitra, J., Chowdhury, I., & Karmakar, P. G. (2017). SSR and morphological trait based population structure analysis of 130 diverse flax (*Linum usitatissimum* L.) accessions. *Comptes Rendus Biologies*. 340(2): 65-75.
- Crowley, D. N. (1988). Effect of Nitrogen and Phosphorus on Linseed. *Field Crop Abstract*. 33: 334-340.
- Cullis, C. A. (2007). "Flax". In Kole. *Chittaranjan (ed.). Oilseeds*. Springer. p. 275. ISBN 978-3-540-34387-5.
- Diepenbrock, W. & Iwerson, D. (1989). Yield development in linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Plant Research Development*. 30: 104-125.
- Diri, U. Ö. (1996). Tohumluk Miktarı ve Azotlu gübre Dozlarının Ketenin (*Linum usitatissimum* L.) Verim ve Verim Ögelerine Etkisi. [Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü. Tüksek Lisans Tezi. Ankara]. (in Turkish).
- Dorell, D. G. (1973). Effect of unusual field weathering on the quality of flax seed. *Con. J. Plant Science*. 53: 907-910.
- Dubey, S. N. & Singh, T. P. (1994). Effect of irrigation, plant population and nitrogen application on yield and yield attributes of linseed (*Linum usitatissimum*). *Indian Journal of Agronomy*. 39(2): 332-334.
- Durrant, A. (1976). Flax and Linseed (*Linum usitatissimum* L.). Evolution of crop plants. Longman group ltd. New York.
- Endes, Z. (2010). Konya şartlarında bazı yağlık keten (*Linum usitatissimum* L.) çeşit ve popülasyonlarında farklı ekim zamanlarının verim ve kalite üzerine etkisinin belirlenmesi. [Doktora Tezi]. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya].
- Elsahookie, M. M. (1978). Effects of Varying Row Spacing on Linseed Yield and Quality. *Canadian Journal of Plant Science*. 58: 935-937.
- FAO. (2020). Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. The Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Flax Council of Canada, (2022). <https://flaxcouncil.ca/>.
- Fischer, R. A., & Maurer, R. (1978). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain Yield Responses. *Australian Journal of Agricultural Research* 29(5): 897 – 912.
- Fu, Y. B. (2011). "Genetic evidence for early flax domestication with capsular dehiscence". *Genetic Resources and Crop Evolution*. 58(8): 1119–1128. doi:10.1007/s10722-010-9650-9. S2CID 22424329.
- Gabiana, C., Mckenzie, B. A., & Hill, G. D. (2005). The influence of plant population, nitrogen and irrigation on yield and yield components of linseed. *Agronomy N.Z.* 35: 44-56.
- Geleta, N. (1999). Performance of improved linseed varieties in western Ethiopia. *AgriTopia*. 14: 2-5.
- Ghanbari-odivi, A., Safari, A., Tahmasebi, B. K., Farroki, M., & Bahrampour, B. (2013). Effect of Delaying in sowing date on growth, yield, yield components and oil content of two genotypes of Flaxseed (*Linum usitatissimum*). *Advances in Environmental Biology*. 7(6): 1014-1018.
- Ghatak, S., Sounda, G., & Chatterjee, P. (1990). Effect of Different Levels of Nitrogen and Irrigation on Yield and Yield Attributing Characters of Linseed (*L. usitatissimum* L.). *Environment and Ecology*. 8(1B): 383-386.
- Gilbertson, H. G. (1993). UK Seed flax fibre. *Agriculture progress*. 65: 25-35.
- Goudenhooff, C., Bourmaud, A., & Baley, C. (2018). Conventional or greenhouse cultivation of flax: What influence on the number and quality of flax fibers?. *Industrial Crops and Products*. 123: 111-117.
- Gubbels, G. H. (1978). Interaction of cultivar and seeding rate on various agronomic characteristics of flax. *Canadian Journal of Plant Science*. 58: 303-309.

- Gubbels, G. H., & Kenaschuk, E. O. (1989). Effect of Seeding Rate on Plant and Seed Characteristics of New Flax Cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*. Vol.69: p.791-795.
- Güngör, M. (2020). *Diyarbakır koşullarında farklı azot ve fosfor seviyelerinin keten (Linum usitatissimum L.)de bazı agronomik ve kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi*. [Master's thesis. Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Habibollahi, H., Noormohammadi, Z., Sheidai, M., & Farahani, F. (2016). SSR and ESTSSR-based population genetic structure of Linum L. (*Linaceae*) species in Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 63(7): 1127-1138.
- Hall, L. M., Booker, H., Sitolo, R. M. P., Jhala, A. J., & Weselake, R. J. (2016). *Flax (Linum usitatissimum L.)*. *Industrial Oil Crops. First Edition*. 157-194.
- Han, N. (2019). *Diyarbakır koşullarında farklı zamanlarda ekilen keten (Linum usitatissimum L.) genotiplerinde agronomik ve teknolojik özelliklerin belirlenmesi*. [Master's thesis. Fen Bilimleri Enstitüsü]. (in Turkish).
- İncekara, F. (1979). *Endüstri Bitkileri ve Islahı-Lif (Cilt:1)*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:65, İzmir. (in Turkish).
- Kara, K. (2014). *Lif Bitkileri Yetiştiriciliği ve Islahı*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:239. S. 194-202. (in Turkish).
- Karaaslan, D., & Tonçer, Ö. (2001). *Diyarbakır koşullarında bazı keten çeşitlerinin adaptasyonu üzerine bir araştırma*. Türkiye 4. Tarla Bitkileri Kongresi. 17-21 Eylül. Tekirdağ (in Turkish).
- Keskin, N. Ç., Öztürk, Ö., Eğribaş, Z. E., & Yılmaz, E. (2020). Bazı yağlık keten çeşitlerinde farklı sıra aralıklarının verim ve verim unsurları üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, Türkiye 13. Ulusal, I. Uluslararası Tarla Bitkileri Kongresi Özel Sayısı:109-120, 2020 ISSN 1304-9984. (in Turkish).
- Khander, M. P., & Sharma. R. P. (1990). Effect of nitrogen and phosphorus on growth and yield of linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Field Crop Abstract*. 43: 4391.
- Khurana, D. K., & Dubey, D. P. (1988). Response of linseed (*Linum usitatissimum* L.) to nitrogen and phosphorus. *Indian Journal of Agronomy*. 34(1): 142-144.
- Kurt, O., Yılmaz, S., & Demir, A. (2005). Effects of timing of plant growth regulators and nitrogen fertilizer application on yield, yield components and oil content of linseed. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(3), 16-22.
- Kushwaha, S., Shrivastava, A., & Namdeo, K. N. (2019). Effect of sulphur on growth, yield and quality of linseed (*Linum usitatissimum* L.) genotypes. *Annals of Plant and Soil Research*, 21(2): 162-166.
- Kvavadze, E., Bar-Yosef, O., Belfer-Cohen, A., Boaretto, E., Jakeli, N., Matskevich, Z., & Meshveliani, T. (2009). "30,000-Year-Old Wild Flax Fibers". *Science*. 325(5946): 1359. Bibcode:2009Sci...325.1359K. doi:10.1126/science.1175404. PMID 19745144. S2CID 206520793.
- Landoni, B., Viruel, J., Gómez, R., Allaby, R. G., Brennan, A. C., Picó, F. X., & Pérez- Barrales, R. (2020). Microsatellite marker development in the crop wild relative *Linum bienne* using genome skimming. *Applications in Plant Sciences*, 8(5): e11349.
- Maurya, A. C., Raghuvver, M., Goswami, G., & Kumar, S. (2017). Influences of date of sowing on yield attributes and yield of linseed (*Linum usitatissimum* L.) varieties under dryland condition in eastern uttar pradesh. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(7): 481-487.
- Nag, S., Mandal, R., & Mitra, J. (2020). Exploration of genetic structure and association mapping for fibre quality traits in global flax (*Linum usitatissimum* L.) collections utilizing SSRs markers. *Plant Gene*, 2, 100256.
- Öksüz, A., Bahadırılı, N. P., Yıldırım, M. U., Sarihan, E. O. (2015). Farklı keten tür ve çeşitlerinin besin bileşenleri, yağ asitleri ve mineral içeriklerinin karşılaştırılması. *Journal of Food and Health Science*. 1(3): 124-134.
- Örs, Ö., & Öztürk, Ö. (2018). Determination of Yield and Some Agricultural Properties of Oil Flax (*Linum usitatissimum* L.) Cultivars Under Konya Conditions. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 32(3), 305-311.
- Popa, F. (1986). Experimental Results on the Sowing Rate of Oilseed Flax on a Low to Moderate Saline Soil. *Field Crop Abstracts*. 42: 134.
- Qiang, H. S., & Mi, J. (1996). A new flax cultivar Ba Ya 5. *Crop Genetic Resources*. No.1.5. 1996.
- Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (1985). *Plant Physiology*. Third Edition. Wadsworth Publishing Co., Be1mont, California. pages 195-228.
- Sargi, S. C., Silva, B. C., Santos, H. M. C., Montanher, P. F., Boeing, J. S., Santos Júnior, O. O., & Visentainer, J. V. (2013). Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*, 33: 541-548. doi:10.1590/S0101-20612013005000057.
- Sekhri, S. (2011). "Textbook of Fabric Science: Fundamentals to Finishing". PHI Learning Private Limited. New Delhi. p. 76.
- Singh, O. P., Saxena, A. K., & Jakhmola, S. S. (1985). Effect of dates of sowing and linseed varieties on the incidence of bud fly, *Dasineura lini* Barnes and their yield. *Agricultural Science. Digest* 5(3): 1571-159.
- Singh, N., Kumar, R., Kumar, S., Singh, P. K., Yadav, V. K., Ranade, S. A., & Yadav, H. K. (2017). Genetic diversity, population structure and association analysis in linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 23(1): 207-219.

- Smykal, P., Bacova-Kerteszova, N., Kalendar, R., Corander, J., Schulman, A. H., & Pavelek, M. (2011). Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 122(7): 1385-1397. DOI 10.1007/s00122-011-1539-2.
- Xie, Y., Yan, Z., Niu, Z., Coulter, J. A., Niu, J., Zhang, J., & Wang, L. (2020). Yield oil content and fatty acid profile of flax (*Linum usitatissimum* L.) as affected by phosphorus rate and seeding rate. *Industrial Crops and Products*, 145. 112087.
- Tabara, V. (1987). Iuantification of the Influence of Soil Condition and Sowing Density on Seed and Oil Yields in Oilseed Flax cv. Midin. *Field Crop Abstracts*, 42: 680.
- Taddese, G., & Tenaye, S. (2018). Effect of nitrogen on flax (*Linum usitatissimum* L.) fiber yield at debre berhan area, Ethiopia. *Forestry Research and Engineering: International Journal*, 2(5): 284-286. DOI: 10.15406/freij.2018.02.00061
- Talebi, S. M., & Matsyura, A. (2021). Genetic structure of some Iranian, new and old worlds *Linum usitatissimum* L. populations. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 45, 1143-1153.
- Tchoum Tchoua, J., Mathiron, D., Pontarin, N., Gagneul, D., vanBohemen, A. I., OtogoN'ngang, E., & Quéro, A. (2019). Phenolic profiling of flax highlights contrasting patterns in winter and spring varieties. *Molecules*, 24(23). 4303.
- Tunçtürk, M. (2007). Determination of Yield and Some Yield Components of Some Linens (*Linum usitatissimum* L.) Cultivars in Van Ecological Conditions. *Journal of Agricultural Sciences*, 13(04). 365-371.
- Tunçtürk, R., & Tunçtürk, M. (2021). The Effects of Different Sowing Dates and Phosphorus Doses on Yield and Quality Characteristics of Flax (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludağ University*, 35(1): 163-180.
- Uzun, Z. (1992). *Ketende Ekim Zamanı ve Ekim Sıklığının Verim ve Verim Öğelerine Etkisi*. [Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü. Yüksek Lisans Tezi. Ankara]. (in Turkish)
- Vollman, J., & Rajcan, I. (2009). *Oil Crops*. Volume 4. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Wissemann, S. U., & Williams, W. S. (Eds.). (1994). *Ancient technologies and archaeological materials*. Taylor & Francis. p. 124. doi:10.4324/9781315075396. ISBN 978-2-88124-631-9.
- Yadav, L. N., Jain, A. K., Singh, P. P., & Vyas, M. D. (1990). Response of Linseed to Nitrogen and Phosphorus Application. *Indian Journal of Agronomy* 35(4): p.427-428.
- Yaşar, M. (2023). Sensitivity of different flax (*Linum usitatissimum* L.) genotypes to salinity determined by GE biplot. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(4): 103592. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103592>
- Yaşar, M., & Yetişsin, F. (2023). Determination of Tolerances of Some Flax Varieties to Different Doses of Salt Concentrations in Early Development Period. *MAS Journal of Applied Sciences*, 8(1): 144-157. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7698369>.
- Yıldırım, U. (2005). *Seçilmiş alternatif keten (Linum usitatissimum L.) hatlarının verim ve verim öğeleri bakımından karşılaştırılması*. [Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Tarla Bitkileri A.B.D. Doktora Tezi] (in Turkish).
- Yıldırım, M., & Arslan, N. (2013). Seçilmiş keten (*Linum usitatissimum* L.) hatlarının bazı bitkisel özelliklerinin karşılaştırılması. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi* 22(2): 59-68.
- Yıldırım, M. U. (1998). *Yabancı Kökenli Keten (Linum usitatissimum L.) Çeşit ve Popülasyonlarının Bazı Bitkisel Özellikleri*. [Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü. Yüksek Lisans Tezi. Ankara] (in Turkish).



Durum Wheat Breeding for Enhanced Safety and Nutritional Value: A GWAS Approach to Tackling Aluminum Uptake

Gelişmiş Güvenlik ve Besin Değeri için Makarnalık Buğday Islahı: Alüminyum Alımıyla Mücadelede Bir GWAS Yaklaşımı

Ahmad Alsaleh¹ 

Received: 17.04.2023

Accepted: 02.06.2023

Published: 21.08.2023

Abstract: The importance of producing safe and high-quality food is on the rise, and developing durum wheat varieties with low aluminum content is crucial in meeting this demand. Breeders can achieve this goal by developing new varieties that are more resistant to aluminum uptake. To reach this purpose, aluminum levels in a diverse collection of durum wheat genotypes were evaluated, including Turkish-released cultivars and local landraces, by using inductively coupled plasma mass spectrometry was used. The results revealed that genotypes ranged from 0.9 to 24.6 mg kg⁻¹, with an average of 3.31 mg kg⁻¹, while 93.1% of them had a low content of ≤ 5 mg kg⁻¹. A genome-wide association study is a robust method for uncovering genetic variations linked to specific traits. In this study, two marker-trait associations were identified on chromosomes 2A and 3A, which explained a phenotypic variation of 14 and 71%. These findings highlight the need for continued monitoring to ensure safe and healthy food for consumers and suggest that collaborative genome-wide association studies and marker-assisted selection can accelerate the development of new durum wheat varieties with reduced aluminum levels. However, further research is necessary to confirm and validate the genetic factors contributing to aluminum content variation among different durum wheat genotypes, although the study's methodology was robust.

Keywords: Durum wheat, Aluminum, SSR, GWAS, MTA.

&

Öz: Güvenli ve kaliteli gıda üretmenin önemi her geçen gün artmakta ve bu talebin karşılanmasında alüminyum içeriği düşük durum buğdayı çeşitlerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Islahçılar, alüminyum alımına daha dirençli yeni çeşitler geliştirerek bu hedefe ulaşabilmeyi amaçlamaktadır. Bu amaca ulaşmak için, Türkiye'de piyasaya sürülen modern çeşitler ve eski yerel çeşitler de dahil olmak üzere çeşitli makarnalık buğday genotiplerinin bulunduğu bir koleksiyonda genotiplerin alüminyum seviyeleri, endüktif olarak eşleştirilmiş plazma kütle spektrometresi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, genotiplerin 0.9 ila 24.6 mg kg⁻¹ arasında değiştiğini, ortalama 3.31 mg kg⁻¹ olduğunu, bunların %93.1'inin ≤ 5 mg kg⁻¹ gibi düşük bir içeriğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Genom çapında ilişkilendirme çalışması önemli özelliklerle ilişkili genetik varyasyonu açığa çıkarmada çok güçlü bir tekniktir. Bu çalışmada, 2A ve 3A kromozomları üzerinde bulunan ve %14 ve %71'lik bir fenotipik varyasyonu açıklayan iki markör-özellik ilişkisi tanımlanmıştır. Bu bulgular, tüketiciler için güvenli ve sağlıklı gıda sağlamak için sürekli takip ihtiyacını vurgulamakta ve genom çapında ilişkilendirme çalışmalarının ve markör destekli seleksiyon yardımıyla, alüminyum seviyeleri azaltılmış yeni durum buğdayı çeşitlerinin geliştirilmesini hızlandırabileceğini öne sürmektedir. Bununla birlikte, çalışmanın metodolojisi sağlam olmasına rağmen, farklı makarnalık buğday genotipleri arasındaki alüminyum içeriği varyasyonuna katkıda bulunan genetik faktörlerin doğrulanması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Makarnalık buğday, Alüminyum, SSR, GWAS, MTA.

Cite as: Alsaleh, A. (2023). Durum Wheat Breeding for Enhanced Safety and Nutritional Value: A GWAS Approach to Tackling Aluminum Uptake. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 9 (2), 262-277. DOI: 10.24180/ijaws.1284491

Plagiarism/Ethic: This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Dr. Ahmad Alsaleh, Yozgat Bozok University, Department of Agriculture and Food, Institute for Cannabis Research 66200 YOZGAT / Türkiye, ahmad.alsaleh@bozok.edu.tr (Sorumlu Yazar / Corresponding author)

INTRODUCTION

Durum wheat (*Triticum turgidum*, L.) is a crucial cereal crop and a rich source of dietary fiber, protein, vitamins, and minerals. Its high protein content makes it suitable for a wide range of end-products of traditional food items (Zingale et al., 2023). Durum wheat accounts for approximately 8% of global wheat production, with the majority (75%) grown in the Mediterranean region, as noted by Alsaleh et al. (2019). According to Mulugeta et al. (2023), Canada and Türkiye are the largest producers of Durum wheat. However, *Triticum turgidum* has a genetic propensity to accumulate elements from the soil in its grains, which can exceed international safety standards as indicated by Delhaize et al. (2012), Garcia-Oliveira et al. (2016), and Liu et al. (2018) and they reported that genetic factors play a significant role in the extent of aluminum accumulation in the grains of various durum wheat cultivars (Mello et al., 2023). Aluminum (Al) is a common element in the earth's crust and is often found in high concentrations in acidic soils (Mello et al., 2023). While aluminum is an essential micronutrient for durum wheat growth in small amounts, as it can improve root growth, enhance nutrient uptake, and raise plant resistance to biotic and abiotic stresses, it can become harmful to plants when present in excess (Ofuo et al., 2023). High levels of aluminum in the soil can limit root growth, reduce nutrient uptake in plants, and lead to stunted growth, chlorosis, and reduced crop yields and quality (Maksimović et al., 2020). Aluminum can be taken up by plant roots and transported to the aboveground tissues of plants, including durum wheat seeds. According to Szabó et al. (2015), wheat roots contain higher concentrations of aluminum compared to the aerial parts, indicating limited translocation of the element. However, the accumulation of aluminum in durum wheat grains can vary depending on various factors, such as the concentration of aluminum in the soil, the duration of exposure, and the plant's genetic makeup (Mello et al., 2023). Some genotypes exhibit higher levels of aluminum accumulation than others. For instance, Gupta et al. (2013), Maksimović et al. (2020), and Rahman et al. (2018) found that the amount of aluminum accumulated in durum wheat seeds varied considerably depending on the genotype of the plant. The presence of high levels of aluminum in durum wheat seeds can have significant implications for the health of humans and animals. Studies have linked increased aluminum intake to several health problems, including Alzheimer's disease, kidney disease, and bone disorders (Mello et al., 2023). Nevertheless, access to sufficient quantities of well-balanced food is a fundamental right of every individual on the planet (Yeken et al., 2019). Breeding crops with essential traits like productivity, seed quality, elemental content, biotic and abiotic stress resistance, among others, is required to meet the rising global food demand. To achieve this, crop improvement programs aim to utilize natural genetic diversity to the fullest extent possible, thus improving selection efficiency (Yeken et al., 2018). Although the soils in southern Türkiye, the center of durum wheat cultivation, are not acidic, as no research or reports were received in this regard. However, ideally, limiting the buildup of aluminum in durum wheat grains is advisable, and cultivating strains of durum wheat may be a viable approach to mitigate the adverse consequences of aluminum toxicity on the grains. These strains can cultivate and yield grains with minimal levels of aluminum. Therefore, it is necessary to survey aluminum levels in durum wheat grains and use biotechnology tools such as DNA molecular markers to detect the loci of genes associated with high or low aluminum concentrations. By harnessing the power of molecular markers, such as Simple Sequence Repeats (SSR), durum wheat breeders can develop new cultivars that thrive in diverse environments at higher speeds. Unlike conventional breeding methods, molecular markers enable breeders to quickly and accurately identify plants that exhibit the desired traits (Alsaleh et al., 2019). SSRs are especially useful in detecting genetic variation in individuals (Nadeem et al., 2018) and can be harnessed for genome-wide association studies (GWAS) and marker-assisted selection (MAS), as indicated by Vieira et al. (2016). A study by (Baloch et al., 2017) and Frouin et al. (2019) has shown that GWAS can be a powerful tool for identifying genetic markers associated with crucial traits in durum wheat. This approach is not only more precise and cost-effective than traditional breeding methods but can also more quickly pinpoint genetic markers linked to aluminum accumulation (Tam et al., 2019). Armed with this information, durum wheat breeders can use MAS to develop a more effective program and evaluate desirable traits in the early generations. Despite the important role that durum wheat plays in Türkiye, there is a deficiency of systematic studies assessing the aluminum content in durum wheat germplasms from this vital region. To address this issue,

a study seems urgent using various durum wheat genotypes to evaluate the variability in phenotypic and genetic aluminum content. Firstly, the phenotypic variation of Al content will be measured and evaluated. Secondly, DNA markers will be employed to screen for genetic polymorphisms. Finally, a GWAS will be conducted to identify the marker-trait associations (MTAs) responsible for the diversity in aluminum content. Once identified, the relevant markers will be thoroughly investigated to locate potential candidate gene locations. These locations can then be incorporated into MAS programs, which aim to cultivate durum wheat varieties with minimal or no levels of aluminum, making them excellent candidates as breeding parents in breeding programs.

MATERIAL AND METHOD

Plant Material

For this study, 130 genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum* L.) were used as plant material to explore genetic variation (Alsaleh et al., 2022a) (Supplementary Table 1). The genotypes were grown during the 2019-2020 growing season at the research field of Çukurova University, Adana, Türkiye, to get fresh and healthy seeds for the study. Standard agricultural practices were followed, such as irrigation, fertilization, and pest and disease management. The harvested grains samples were stored in dry and cool storage until they were used for elemental composition analysis at Yozgat Bozok University, Yozgat, Türkiye. These grains were also subjected to several toxic element analyses reported by Alsaleh et al. (2022b) and Alsaleh (2022c).

Isolation of Genomic DNA and SSR Analysis

In February 2020, fresh leaves were obtained for the purpose of isolating genomic DNA and performing SSR analysis. The CTAB protocol was employed at the Laboratory of BİLTEM, Yozgat Bozok University, Yozgat-Türkiye (Alsaleh, 2022c). The consequent DNA was evaluated for both quantity and quality using 8% agarose gel electrophoresis. Following isolation, the DNA was diluted to a concentration of 10 ng μl^{-1} and used for SSR analysis. The same DNA was utilized and reported by Alsaleh et al. (2022b) and Alsaleh (2022c) for Cadmium and Platinum investigations. Microsatellite primers were selected to cover a variety of segments of durum wheat chromosomes (Supplementary Table 2). In Alsaleh's 2022c research, the same set of eighty-two SSR primers was utilized to detect a recently discovered QTL linked with platinum accumulation. Supplementary Table 2 provides an overview of the SSR primers and their relevant information used in the research. The M13-tailed primer approach, based on Alsaleh et al. (2022a), was employed to amplify the SSR region through PCR. The final PCR reaction volume was 12 μl , containing 1X buffer, 0.125 mM dNTPs, 0.4 pmol "M13" forward primer, 0.3 pmol reverse primers, 3.0 pmol universal M13 primer labeled with one of four fluorescent dyes (6-FAM, VIC, NED, or PET), 0.12U Taq DNA polymerase, and approximately 25 ng genomic DNA. The PCR amplification cycle began with primary denaturation at 94° C for 5 minutes, followed by 30 cycles of 94° C for 1 minute, 55 to 65° C (depending on the annealing temperature of the primers) for 1 minute, and 72° C for 1 minute. This was followed by eight cycles of 94° C for 30 seconds, 53° C for 45 seconds, and 72° C for 45 seconds. The final extension was 72° C for 10 minutes. The accuracy of the SSR fragments was verified twice using Gene Mapper software v3.7 (Applied Biosystems) in accordance with the manufacturer's instructions. The individual bands of the SSR were analyzed, and the binary scoring method was used to assign a '1' for the presence of bands and a '0' for their absence. This technique facilitates the evaluation and statistical analysis of co-dominant SSR data, as reported by Kaya et al. (2016). Finally, the PCR products were subjected to fragment analysis and loaded onto the ABI 3130xl Genetic Analyzer device (Applied Biosystems).

Aluminum Analysis

The study conducted an aluminum analysis by manually harvesting three spikes of each genotype, one from each replication, and then threshing them by hand to obtain the grains. Soil samples were collected from the experimental field at Çukurova University in Adana. To reduce analytical investigation costs, the seeds from three replications of each genotype were combined, milled, and dried in an oven. The resulting mixed flour was then dissolved in an acidic solution using the "HPR-FO-52" procedure for wheat flour by the SK-10 high-pressure rotor microwave digestion system (ETHOS EASY Milestone,

Italy) at a concentration of 0.5 g. After digestion, the samples were cooled to room temperature and diluted with 10% v v⁻¹ nitric acid up to 20 ml for analysis of aluminum content using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) (Thermo Scientific ICAPOC, USA). The ICP-MS settings were 1550 W for radiofrequency power, 0.96 L min⁻¹ for nebulizer gas, 0.88 L min⁻¹ for plasma gas, 3.01 bar for nebulizer pressure, dwell time of 0.01 ms, and a spray chamber temperature of 3.7°C. To ensure accuracy, the entire sample and standards underwent three repeated measurements. The digestion and aluminum measurement (ICP-MS) procedures were conducted at BİLTEM laboratories located at Yozgat Bozok University, Türkiye.

Phenotypic Statistical Analysis

In this study, durum wheat genotypes were analyzed to investigate the variation in aluminum content and distribution of phenotypic frequency among different cultivars and landraces. The panel was divided into four groups based on their origin, including 50 Turkish cultivars (Turkish CVs), 21 foreign cultivars (foreign CVs), 44 Izmir gene bank landraces (ex-situ LDs), and 15 locally grown landraces (in-situ LDs). Statistical analysis was conducted using Microsoft Excel software to perform ANOVA analysis for each group.

Marker-trait Investigation Analysis

The proportion of phenotypic variation explained by aluminum content for each marker was estimated using the R² value in TASSEL 5 (Glaubitz et al., 2014). To determine significant associations, the Bonferroni threshold for multiple testing and an adjusted corrective threshold were applied (Kaler and Purcell, 2019). Precisely, the 5% Bonferroni threshold for multiple comparisons was used, resulting in 337 markers being included in the current GWAS.

RESULTS AND DISCUSSION

Phenotypic Variations for Aluminum Contents

Although Türkiye, being a primary hub of wheat cultivation, plays a crucial role in facilitating the dissemination of diverse crops across different continents (Arystanbekkyzy et al., 2019), durum wheat is a major staple food crop that has the potential to accumulate aluminum in its grain, leading to negative effects on its yield and quality (Maksimović et al., 2020; Szabó et al. 2015). The degree of aluminum accumulation varies among different genotypes and is influenced by environmental factors such as soil acidity, and safe levels of aluminum in soil vary globally and depend on factors such as soil type and intended use. Various organizations have established guidelines and limits for aluminum in the soil to protect human health and the environment. For instance, the European Union (2012) has appointed a limit of 2000 mg kg⁻¹ of soil dry weight for aluminum in agricultural soils. Despite the high concentration of aluminum found in the soil analysis of the experiment site (8312 mg kg⁻¹) (Table 1), which exceeds the established needs of the EU, there is no significant risk due to the soil's neutral pH level of 7.8 (Table 1).

Table 1. Soil analyses of trial area.

Çizelge 1. Deneme Alanının Toprak Analizleri.

Structure				%					mg kg ⁻¹				
pH	EC (dS m ⁻¹)	Soil class	Texture	Lime	Organic matter	N	P	K	Fe	Zn	Mn	Cu	Al
7.6	0.24	C	Silt-loam	29.1	1.3	0.12	0.0011	0.04	2.9	0.5	8.8	1.6	8312

Reference: Laboratory analyses results of Soil Science and Plant Nutrition Department of Çukurova University

This neutral pH level does not contribute to increased aluminum toxicity, mitigating the potential negative effects of the high aluminum concentration. As a result, no reports of aluminum toxicity have been observed in the soil of durum wheat cultivation areas in Türkiye. Aluminum is a natural occurrence in food, making it impossible to fully eliminate it from our diet. However, the scientific society is concerned with reducing the average daily consumption of aluminum in food. The absence of established international safe levels of aluminum in durum wheat grains makes it desirable to minimize aluminum accumulation in these grains. The concentration of aluminum in wheat flour varies significantly across

regions, an example: higher values were found in China (Ma et al., 2019) than in Germany (Stahl et al., 2011). On average, cereal products contain 4 mg kg⁻¹ of aluminum, but the content can range from 1 to 737 mg kg⁻¹ (Stahl et al., 2011). Therefore, breeding varieties that produce grains with low ranks of aluminum is a crucial strategy to address this issue. Therefore, before executing this strategy, it is necessary to measure the aluminum content of different durum germplasms. Regarding our durum wheat genotypes, the "Kümbet-2000" Turkish cultivar had the lowest aluminum content at 0.9 mg kg⁻¹, while the in-situ landrace "İskenderiye" had the highest content at 24.6 mg kg⁻¹. The average aluminum content for all tested genotypes was 3.31 mg kg⁻¹, with 93.1% exhibiting low levels between 0.9 and 5 mg kg⁻¹ (Table 2, Figure 1a). Foreign cultivars had aluminum content levels between 1.6 and 3.3 mg kg⁻¹, with an average of 2.11 mg kg⁻¹, while Turkish cultivars had a content range of 0.9 to 5.1 mg kg⁻¹, with an average of 2.38 mg kg⁻¹, and 98% of them had a content of 0.9 to 5 mg kg⁻¹ (Table 2, Figures 1b & 2). Regarding our studied landraces, In situ landraces had higher aluminum content levels, ranging from 2.3 to 24.6 mg kg⁻¹, with an average of 6.05 mg kg⁻¹, and 20% of them had a content exceeding 5 mg kg⁻¹ (Table 2, Figure 1b & 2). Ex-situ landraces had slightly lower aluminum contents compared to in-situ landraces, ranging from 1.70 to 20.7 mg kg⁻¹, with an average of 3.99 mg kg⁻¹. Roughly 11.4% of ex-situ landraces showed aluminum content over 5 mg kg⁻¹ (Table 2, Figures 1b & 2). Out of the entire panel, six genotypes had the highest aluminum content, all of which were landraces. Among these, four were from ex-situ "TR 31902 -Malatya", "TR 81278 -Ankara", "TR 46881 -Erzincan", and "TR 54977 -Yozgat" with aluminum levels of 12.8, 16.1, 17.6, and 20.7 mg kg⁻¹, respectively. The remaining two genotypes with high aluminum content were "Mersiniye" and "İskenderiye" from the in-situ group, showing aluminum levels of 19.4 and 24.6 mg kg⁻¹, respectively (Table 2).

Table 2. Aluminum Content in Cultivars and Landraces Using ICP-MS Analysis.

Çizelge 2. ICP-MS Analizi Kullanılarak Modern ve Yerel Çeşitlerdeki Alüminyum İçeriği.

Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)	Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)	Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)	Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)
1	5.1	35	2.8	69	1.9	103	2.5
2	4.3	36	2.2	70	2.0	104	2.4
3	3.1	37	2.7	71	3.3	105	3.8
4	3.1	38	1.8	72	2.4	106	2.2
5	2.3	39	1.9	73	9.9	107	1.8
6	3.2	40	2.1	74	1.9	108	2.4
7	4.3	41	1.7	75	1.9	109	16.1
8	2.3	42	2.1	76	2.5	110	1.7
9	3.7	43	1.7	77	2.6	111	2.6
10	2.4	44	2.3	78	2.6	112	2.0
11	2.5	45	1.4	79	2.7	113	3.6
12	0.9	46	2.3	80	3.1	114	1.7
13	1.8	47	2.8	81	2.2	115	2.0
14	2.3	48	2.0	82	17.6	116	4.7
15	1.4	49	2.0	83	2.4	117	3.8
16	1.9	50	2.8	84	2.4	118	19.4
17	1.9	51	1.7	85	2.9	119	3.2
18	2.5	52	2.5	86	3.8	120	2.4
19	1.7	53	1.6	87	2.5	121	2.7
20	1.7	54	2.4	88	2.2	122	2.7
21	2.4	55	2.2	89	2.1	123	4.5
22	2.1	56	2.0	90	2.3	124	3.9

Table 2. Aluminum Content in Cultivars and Landraces Using ICP-MS Analysis (continued).

Çizelge 2. ICP-MS Analizi Kullanılarak Modern ve Yerel Çeşitlerdeki Alüminyum İçeriği (devam etti).

Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)	Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)	Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)	Genotype No	Al content (mg kg ⁻¹)
23	1.5	57	1.6	91	20.7	125	4.6
24	2.6	58	2.0	92	2.4	126	2.5
25	2.9	59	3.0	93	2.1	127	24.6
26	1.7	60	2.4	94	2.5	128	6.8
27	1.3	61	2.3	95	1.9	129	2.3
28	2.4	62	1.6	96	4.1	130	2.5
29	2.1	63	1.9	97	3.7	Min	0.9
30	2.5	64	2.2	98	3.0	Max	24.6
31	3.6	65	1.7	99	2.7	Average	3.31
32	2.0	66	2.7	100	12.8	STDS	3.61
33	2.9	67	1.7	101	2.2		
34	2.2	68	1.7	102	2.5		

Compared to a study on unprocessed wheat grain samples from China, our studied genotypes had a lower range and inferior average aluminum content of 3.31 mg kg⁻¹. The researchers found aluminum values ranging from 2.4 to 31.6 mg kg⁻¹, with a mean of 11 ± 6 mg kg⁻¹, and roughly 80% of the samples had values ranging from 5 to 20 mg kg⁻¹ (Liang et al., 2019; Nanda et al., 2016; Szabó et al., 2015) while 93.1% of our studied genotypes exhibiting less than 5 mg kg⁻¹ (Table 2, Figure 1a). The frequency distribution of aluminum concentrations in the panel's grain was split into four groups according to the source of the genotypes. Notably, both foreign and Turkish cultivars had lower overall aluminum percentages than in-situ or ex-situ landraces, with values of 2.11 and 2.38 mg kg⁻¹, respectively. Conversely, the in-situ and ex-situ landrace groups had the highest average aluminum contents, at 6.05 and 3.99 mg kg⁻¹, respectively (Figure 1b). This indicates that the average aluminum content among the groups can be ranked as follows: in-situ landraces > ex-situ landraces > Turkish cultivars > foreign cultivars. These findings suggest that the geographical origin of genotypes may affect their aluminum levels, with foreign genotypes having lower levels of aluminum than Turkish genotypes.

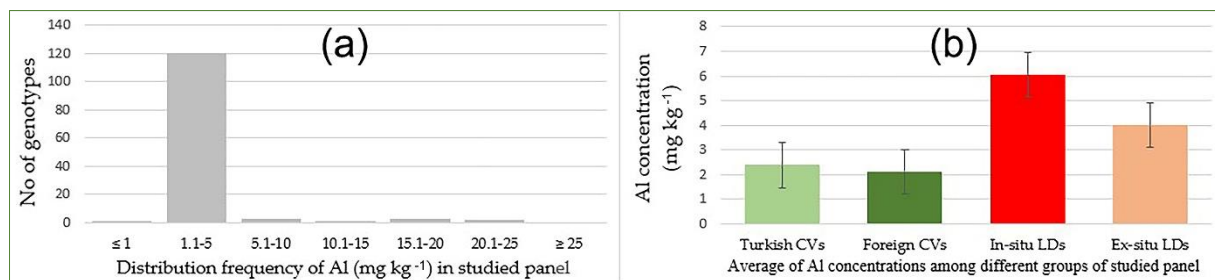


Figure 1.(a) presents the frequency distribution of grain Aluminum concentrations for the entire panel. (b), the frequency distribution of grain Aluminum concentrations is displayed for each group individually. Finally. Şekil 1(a): Tüm panel için dane Alüminyum konsantrasyonlarının frekans dağılımını göstermektedir. (b), Her grup için ayrı ayrı dane Alüminyum konsantrasyonlarının frekans dağılımını göstermektedir.

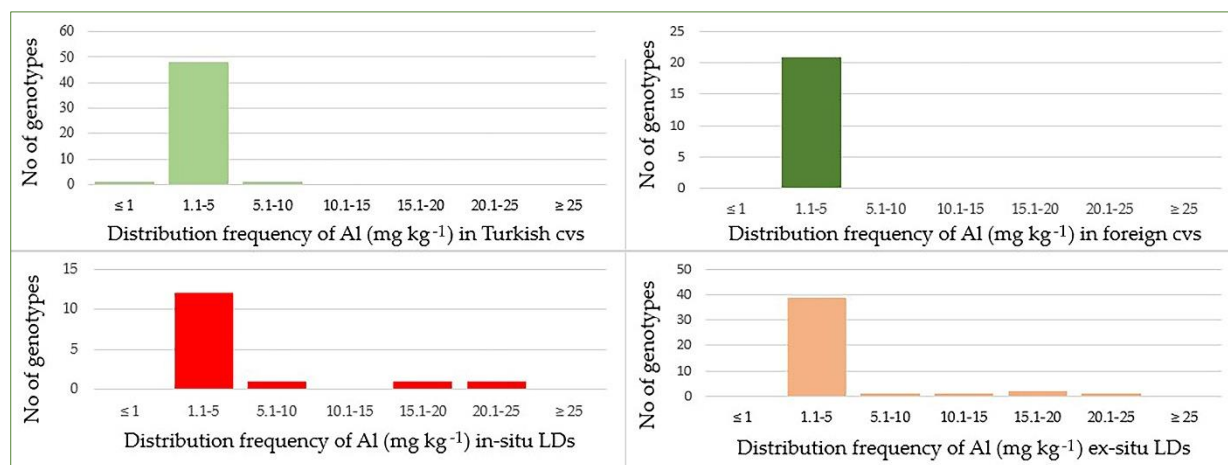


Figure 2. illustrates the frequency distribution of the number of genotypes for each group separately.

Şekil 2. Her grup için genotip sayısının frekans dağılımını ayrı ayrı göstermektedir.

Exploring Genetic Variations and Associations With Markers and Traits

Researchers aim to identify genetic markers and traits linked to aluminum accumulation in durum wheat to develop more resistant varieties. Understanding the genes involved in aluminum accumulation and its impact on the plant can help to develop strategies to mitigate its harmful effects and improve the overall yield and quality of durum wheat crops. As durum wheat is a staple food in many regions, especially in Türkiye and meditation countries, high levels of aluminum in food can pose a risk to human health (Agency for Toxic Substances and Disease Registry– ATSDR., 2008; Mello et al., 2023), therefore, it is crucial to develop methods to reduce aluminum accumulation in durum wheat to ensure food safety and promote human health like using molecular markers for GWAS. Microsatellites have been previously recognized as effective markers in GWAS due to their ability to cover a wider genomic region and offer several advantages, including higher resolution, greater inter-population variability, and significant intrinsic applicability (Alsaleh, 2022c; Vâli et al., 2008). Hence, this study employed microsatellite primers. The investigation aimed to expedite the detection of the phenotype and development of new durum wheat varieties with low Al levels. So, in this study, genotyping of 82 SSR primers across genotypes identified 780 polymorphic markers. Markers with allele frequencies below 0.05 were excluded from GWAS, resulting in 337 markers used for analysis. To prevent false positive associations, the study employed an MLM+Q+K model with population structure (Q) and kinship (K) as covariates. The approach enabled the identification of significant MTAs associated with crop aluminum content, as shown in Table 3 and the Manhattan plot (Figure 3).

Table 3. List of Markers Associated with Aluminum Content Using MLM (Q + K) Models.

Çizelge 3. MLM (Q + K) Modelleri Kullanılarak Alüminyum İçeriğiyle İlişkili Markörlerin Listesi.

Marker	Chromosome	p	MarkerR2
wmc522bp238	2A	1.79E-16	0.71
gwm369bp320	3A	9.88E-05	0.14

Two MTAs were identified, "wmc522bp238" and "gwm369bp320", which were associated with accumulated grain aluminum content and explained a phenotypic variation of 14-71%. The MTA "wmc522bp238", located on chromosome 2A, had the highest value in explaining the total phenotypic variance (71%), while "gwm369bp320" was lying on 3A. Both MTAs were detected in the A genome, indicating that the A genome may play a critical role in the genetic control of the aluminum accumulation trait.

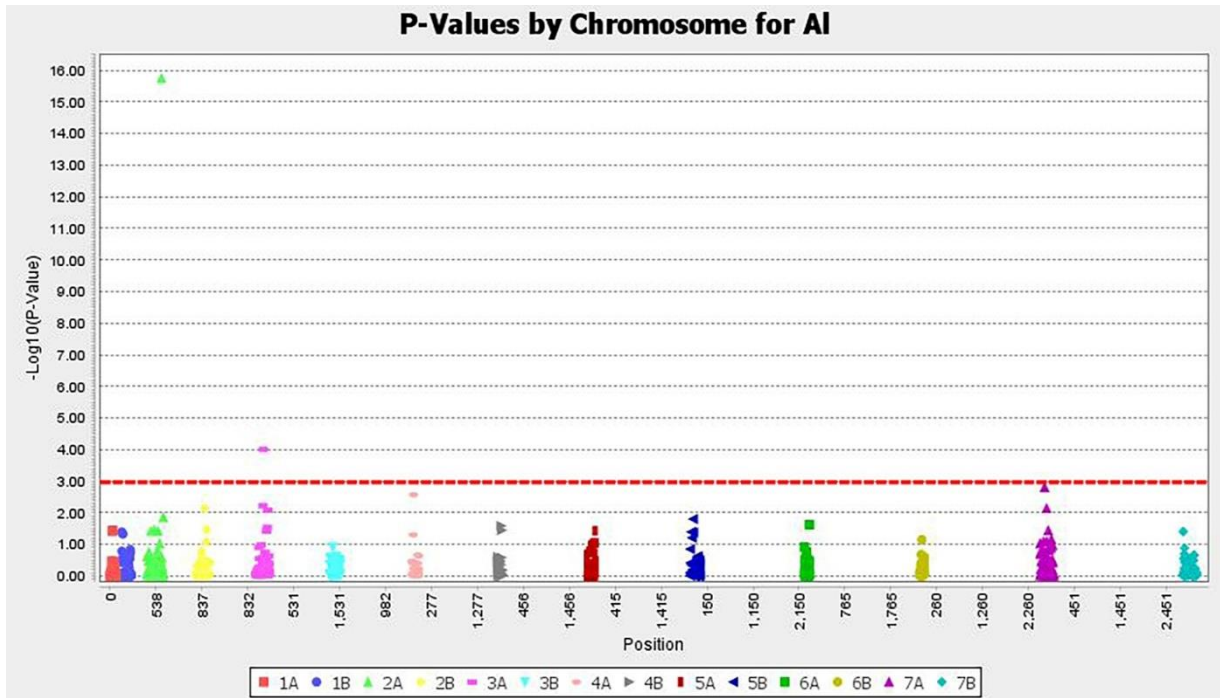


Figure 3. Manhattan plot illustrating the genome-wide scan of SSR markers linked to Aluminum content. The plot features a red horizontal dashed line indicating the significant SSRs associated with Aluminum content.

Şekil 3. Alüminyum içeriğine bağlı SSR markörlerinin genom çapında taramasını gösteren Manhattan grafiği. Alüminyum içeriği ile ilişkili önemli SSR'lar şekil üzerindeki kırmızı yatay kesikli çizgiyle gösterilmektedir.

GWAS here successfully identified the genetic factors responsible for aluminum accumulation in durum wheat. The methodology used in this research was robust and provided valuable insights into the relationship between the identified markers and the trait of interest. The use of GWAS as a tool for MAS in crops will facilitate the identification of these associations. However, ensuing research endeavors are necessary to confirm and validate the genetic elements responsible for the diversity in aluminum levels observed among various types of durum wheat.

CONCLUSION

The purpose of the research was to evaluate the levels of aluminum in various genotypes of Turkish durum wheat germplasm. The findings showed that the durum wheat genotypes investigated generally had low levels of aluminum, which is crucial for ensuring food safety. Additionally, GWAS was employed as a tool to pinpoint genetic factors responsible for aluminum accumulation in durum wheat. The study successfully determined two significant marker-trait associations linked to aluminum contents, which could be utilized in MAS. The robust methodology utilized in the study could enable the development of new durum wheat varieties with low Al levels by identifying alleles associated with Al content, thus reducing the time needed for breeders. However, it is required to perform further investigations to validate the genetic factors contributing to the variation in Al content among diverse durum wheat genotypes.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENT

The author acknowledges the Scientific Research Projects Unit of Yozgat Bozok University in Yozgat, Türkiye for their generous financial support through Project No. 6602c-BİLTEM/19-323.

REFERENCES

- ATSDR (2008). Toxicological profile for aluminum. In U.S. Department of Health and Human Services (Ed.), *Agency for Toxic Substances and Disease Registry –ATSDR’s toxicological profiles*. Washington, D.C. http://dx.doi.org/10.1201/9781420061888_ch29.
- Alsaleh, A. (2022c). SSR-based genome-wide association study in Turkish durum wheat germplasm revealed novel QTL of accumulated platinum. *Molecular Biology Reports*, 49, pages 11289–11300. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07720-7>.
- Alsaleh, A., Baloch, F. S., Sesiz, U., Nadeem, M. A., Hatipoğlu, R., Erbakan, M., & Özkan, H. (2022b). Marker-assisted selection and validation of DNA markers associated with cadmium content in durum wheat germplasm, *Crop and pasture science*, 73(7–8), 943–956. doi:10.1071/CP21484.
- Alsaleh, A., Baloch, F. S., Azrak, M., Hamwieh, A., Cömertpay, G., Hatipoğlu, R., Nachit, M., & Özkan, H. (2019). Identification of chromosomal regions in the genetic control of quality traits in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) from the Fertile Crescent. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(3), 334–350. doi:<https://doi.org/10.3906/tar-1807-83>.
- Alsaleh, A., Bektas, H., Baloch, F. S., Nadeem, M. A., & Özkan, H. (2022a). Turkish durum wheat conserved ex-situ and in situ unveils a new hotspot of unexplored genetic diversity. *Plant Genetic Resources, Crop Science*, 62, 1200–1212. DOI: 10.1002/csc.2.20723.
- Arystanbekkyzy, M., Nadeem, M. A., Aktas, H., Yeken, M. Z., Zencirci, N., Nawaz, M. A., Ali, F., Haider, M. S., Tunc, K., Chung, G., & Baloch, F. S. (2019). Phylogenetic and Taxonomic Relationship of Turkish Wild and Cultivated Emmer (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) Revealed by iPBS-Retrotransposons Markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21, 163-155. <https://hdl.handle.net/20.500.12619/33351>.
- Baloch, F. S., Alsaleh, A., Shahid, M. Q., Çiftçi, V., Sáenz de Miera, L. E., Aasim, M., Nadeem, M. A., Aktaş, H., Özkan, H., & Hatipoğlu, R. (2017). A whole genome DArTseq and SNP analysis for genetic diversity assessment in durum wheat from Central Fertile Crescent. *PLoS ONE*, 12(1), e0167821. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167821>.
- Delhaize, E., James, R. A., & Ryan, P. R. (2012). Aluminium tolerance of root hairs underlies genotypic differences in rhizosphere size of wheat (*Triticum aestivum*) grown on acid soil. *The New Phytologist*, 195(3), 609-619. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04183.x>. PMID:22642366.
- European Union. (2012). Commission Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*, 83(3), 1-295. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/a42dd9b2-b63f-438b-a790-1fa5995b7d41>.
- Frouin, J., Labeyrie, A., Boissard, A., Sacchi, G. A., & Ahmadi, N. (2019). Genomic prediction offers the most effective marker assisted breeding approach for ability to prevent arsenic accumulation in rice grains. *PLoS ONE*, 14(6), e0217516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217516>.
- Garcia-Oliveira, A., Martins-Lopes, P., Tolrà, R., Poschenrieder, C., Guedes-Pinto, H., & Benito, C. (2016). Differential physiological responses of Portuguese bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under aluminium stress. *Diversity*, 8(4), 26. <http://dx.doi.org/10.3390/d8040026>.
- Glaubitz, J. C., Casstevens, T. M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R. J., Sun, Q., & Buckler, E. S. (2014). TASSEL-GBS: A High Capacity Genotyping by Sequencing Analysis Pipeline. *PLoS ONE*, 9(2), e90346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090346>.
- Gupta, N., Singh, G. S., & Kumar, A. (2013). Molecular basis of aluminium toxicity in plants: A review. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 21-37. DOI: 10.4236/ajps.2013.412A3004.
- Kaler, A. S., & Purcell, L. C. (2019). Estimation of a significance threshold for genome-wide association studies. *BMC Genomics*, 20, 618. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5992-7>.
- Kaya, H. B., Cetin, O., Kaya, H. S., Sahin, M., Sefer, F., & Tanyolac, B. (2016). Association mapping in Turkish olive cultivars revealed significant markers related to some important agronomic traits. *Biochemical Genetics*, 54(2), 313-329. <https://doi.org/10.1007/s10528-016-9738-9>.
- Liang, J., Liang, X., Cao, P., Wang, X., Gao, P., Ma, N., Li, N., & Xu, H. (2019). A preliminary investigation of naturally occurring aluminum in grains, vegetables, and fruits from some areas of China and dietary intake assessment. *Journal of Food Science*, 84(3), 701-710. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.14459>. PMID:30730583.
- Liu, W., Xu, F., Lv, T., Zhou, W., Chen, Y., Jin, C., Lu, L., & Lin, X. (2018). Spatial responses of antioxidative system to aluminum stress in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *The Science of the Total Environment*, 627, 462-469. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.021.
- Ma, J., Jiang, G., Zheng, W., & Zhang, M. (2019). A longitudinal assessment of aluminum contents in foodstuffs and aluminum intake of residents in Tianjin metropolis. *Food Science & Nutrition*, 7(3), 997-1003. <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.920>. PMID:30918642.

- Maksimović, I., Kastori, R., Putnik-Delić, M., Momčilović, V., Denčić, S., & Mirosavljević, M. (2020). Genetic differences in aluminium accumulation in the grains of field grown Aegilops and Triticum. *Plant, Soil and Environment*, 66(7), 351-356. <https://doi.org/10.17221/127/2020-PSE>.
- Mello, J. C., Tonial, I. B., & Lucchetta, L. (2023). Aluminum accumulation in the wheat production chain: a review. *Food Science and Technology*, 43, e116022. <https://doi.org/10.1590/fst.116022>.
- Mulugeta, B., Tesfaye, K., Ortiz, R., Johansson, E., Hailesilassie, T., Hammenhag, C., Hailu, F., & Geleta, M. (2023). Marker-trait association analyses revealed major novel QTLs for grain yield and related traits in durum wheat. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1009244. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009244>.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Çömertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., & Baloch, F. S. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: Current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(2), 261-285. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401>.
- Nanda, B. B., Brahmaji Rao, J. S., Kumar, R., & Acharya, R. (2016). Determination of trace concentration of aluminium in raw rice samples using instrumental neutron activation analysis and particle induced gamma-ray emission methods. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 310(3), 1241-1245. <http://dx.doi.org/10.1007/s10967-016-5032-x>.
- Ofoe, R., Thomas, R. H., Asiedu, S. K., Wang-Pruski, G., Fofana, B., & Abbey, L. (2023). Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 13, DOI: 10.3389/fpls.2022.1085998 .
- Rahman, M. A., Lee, S. H., Ji, H. C., Kabir, A. H., Jones, C. S., & Lee, K. W. (2018). Importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: Current status and opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3073. doi: 10.3390/ijms19103073. PMID: 30297682; PMCID: PMC6213855.
- Stahl, T., Taschan, H., & Brunn, H. (2011). Aluminium content of selected foods and food products. *Environmental Sciences Europe*, 23(1), 1-11. <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-23-37>.
- Szabó, A., Gyimes, E., & Véha, A. (2015). Aluminium toxicity in winter wheat. *Acta Universitatis Sapientiae. Alimentaria*, 8(1), 95-103. <http://dx.doi.org/10.1515/ausal-2015-0009>.
- Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., & Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics*, 20, 467-484. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0127-1>.
- Väli, U., Einarsson, A., Waits, L., & Ellegren, H. (2008). To what extent do microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations? *Molecular Ecology*, 17(17), 3808-3817. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03876.x.
- Vieira, M. L., Santini, L., Diniz, A. L., & Munhoz, C. F. (2016). Microsatellite markers: What they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*, 39(3), 312-328. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027.
- Yeken, M. Z., Kantar, F., Çancı, H., Özer, G., & Çiftçi, V. (2018). Türkiye'deki Yerel Phaseolus vulgaris Populasyonlarını Kullanarak Kuru Fasulye Çeşitlerinin Islahı. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 4(1), 45-54. DOI: 10.24180/ijaws.408794.
- Yeken, M. Z., Nadeem, M. A., Karaköy, T., Baloch, F. S., & Çiftçi, V. (2019). Determination of Turkish Common Bean Germplasm for Morpho-agronomic and Mineral Variations for Breeding Perspectives in Türkiye. *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 22(Suppl: 1), 38-50. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.549996.
- Zingale, S., Spina, A., Ingraio, C., Fallico, B., Timpanaro, G., Anastasi, U., & Guarnaccia, P. (2023). Factors affecting the nutritional, health, and technological quality of durum wheat for pasta-making: A systematic literature review. *Plants*, 12(3), 530. <https://doi.org/10.3390/plants12030530>.

Supplementary Table 1. outlines 130 genotypes that were evaluated for Aluminum assessments, including the cultivars and landraces selected, their country of origins, release year, group, and pedigree.

Ek çizelge 1. Alüminyum analizleri için incelenen 130 genotipi, seçilen modern ve yerel çeşitleri, orijin ülkeleri, piyasa çıkma yılı, grubu ve soyağacı dahil olmak üzere özetlemektedir

No	Name	Country	Year	Group	Pedigree/collection side/ growing locations
1	Kunduru-1149	Türkiye	1967	Turkish CV	(S)LV-TUR
2	Çeşit-1252	Türkiye	1999	Turkish CV	61-130/KUNDURU-414-44//377-2
3	Yılmaz-98	Türkiye	1998	Turkish CV	DF-9-71/3/V-2466//ND-61-130/414-44/4/ERGENE
4	Yelken-2000	Türkiye	2000	Turkish CV	ZF/LEEDS//FORAT/3/ND-61-130/LEEDS/4/(TR.SE)AU-107/5/GERARDO
5	Altın	Türkiye	1998	Turkish CV	BARRIGON-YAQUI-ENANO/2*TEHUACAN-60//2B//LONGSHANKS/3/BERKMEN-469
6	Meram-2002	Türkiye	2002	Turkish CV	ND-61-130/414-44//CAKMAK-79
7	Dumlupınar	Türkiye	2006	Turkish CV	BERKMEN/G-75-T-181

Durum Wheat Breeding for Enhanced Safety and Nutritional Value: A GWAS Approach to Tackling Aluminum Uptake

8	Şölen-2002	Türkiye	2002	Turkish CV	STERNA,MEX/ALTAR-84/3/GANSO/FLAMINGO,MEX//CANDO
9	Altıntoprak-98	Türkiye	1998	Turkish CV	ALTAR-84/ARAOS
10	Çakmak-79	Türkiye	1979	Turkish CV	UVEYIK-162/ND-61-130 CMK79//14-44/OVIACHIC-
11	Eminbey	Türkiye	2007	Turkish CV	65/3/BERKMEN/OVIACHIC-65/4/KUNDURU-1149/5/LEEDS//DWARF-MUTANT/SARIBASAK
12	Kümbet-2000	Türkiye	2000	Turkish CV	ND-61-130//414-44/377-2/3/DF-15-72 DF-21-72/GERARDO-VZ-466//ND-61-130/414-
13	İmren	Türkiye	2009	Turkish CV	44/3/ERGENE/4/DF-21-72//ND-61-130/UVEYIK-162/3/128-3 MAGHREBI-
14	Balcalı-2000	Türkiye	2000	Turkish CV	72/(SIB)FLAMINGO,MEX//CRANE(SIB)/ND-USA-2299/3/(SIB)YAVAROS-79/4/DACKIYE/(SIB)RABICORNO//((SIB)WINGET;(SIB)STERNA,MEX PELICANO/RUFF//GAVIOTA/ROLETTE;
15	Sham-1	Türkiye	1984	Turkish CV	PELICANO(SIB)/(SIB)RUFF//GAVIOTA(SIB)/(SIB)ROLETTE KOBAK-2916/LEEDS//6783/3/BERKMEN-
16	Ankara-98	Türkiye	1998	Turkish CV	469/7/CRANE/GANSO//APULICUM/3/DF-17-72/4/DI-165137/GEDIZ-
17	Balcalı-85	Türkiye	1985	Turkish CV	JORI-69(SIB)/(SIB)ANHINGA//((SIB)FLAMINGO,MEX
18	Fuatbey-2000	Türkiye	2000	Turkish CV	---
19	Akbaşak-073144	Türkiye	1970	Turkish CV	(S)LV-TUR
20	Artuklu	Türkiye	2008	Turkish CV	LAHN//GANSO/STORK
21	Mirzabey-2000	Türkiye	2000	Turkish CV	GD-2/D-1184528
22	Aydın-93	Türkiye	1993	Turkish CV	JORI-69/HAURANI
23	Diyarbakır-81	Türkiye	1981	Turkish CV	LD-393//BELADI-116-E/2*TEHUACAN-60/3/COCORIT-71
24	Eyyubi	Türkiye	2008	Turkish CV	MORUS//ALTAR-84/ALONDRA
25	Selçuklu-97	Türkiye	1997	Turkish CV	073-44*2/OVI/3/DF-21-72//ND-61-130/UVEYIK-162
26	Fatase1-185/1	Türkiye	1964	Turkish CV	Selected from FATA bring from Burdur in 1952
27	Altınbaç-95	Türkiye	1995	Turkish CV	KUNDURU//D-68111/WARD
28	Harran-95	Türkiye	1995	Turkish CV	KORIFLA//DS-15/GEIGER ; DURUM-DWARF-S-15/CRANE//GEIER
29	Sarıçanak-98	Türkiye	1998	Turkish CV	DACKIYE/GEDIZ-75//USDA-575
30	Tüten-2002	Türkiye	2002	Turkish CV	ALTAR/AVETORO/3/GANSO/FLAMINGO,MEX//CANDO
31	Turabi	Türkiye	2004	Turkish CV	CRESO/CRANE
32	Ege-88	Türkiye	1988	Turkish CV	JORI-C-69/ANHINGA//FLAMINGO,MEX
33	Güney yıldızı	Türkiye	2010	Turkish CV	RASCON-39/TILD-1

Supplementary Table 1. outlines 130 genotypes that were evaluated for Aluminum assessments, including the cultivars and landraces selected, their country of origins, release year, group, and pedigree (continued).

Ek çizelge 1. Alüminyum analizleri için incelenen 130 genotipi, seçilen modern ve yerel çeşitleri, orijin ülkeleri, piyasa çıkma yılı, grubu ve soyağacı dahil olmak üzere özetlemektedir (devam etti).

No	Name	Country	Year	Group	Pedigree/collection side/ growing locations
34	Fırat-93	Türkiye	2002	Turkish CV	SNIFE/3/JORI-C-69/CRANE/GANSO/ANHINGA; ANHINGA(SIB)/(SIB)VOL//((SIB)FLAMINGO,MEX/3/SHAW
35	Şahinbey	Türkiye	2008	Turkish CV	Lagost-2 ICD.86-0471-ABL-OTR-8AP-OTR-20AP-OTR
36	Zühre	Türkiye	2011	Turkish CV	SN-TURK-M-183-84-375/(SIB)NIGRIS//TANTLO-1
37	Gündaş	Türkiye	2012	Turkish CV	LGT3/4/BICRE/3/CHAM-1//GAVIOTA/STARKE
38	Akçakale-2000	Türkiye	2002	Turkish CV	SHELLENTE//CORMORANT/RUFFOUS/3/AJAIA
39	Gökgöl-79	Türkiye	1979	Turkish CV	BUCK-BALCARCE//BARRIGON-YAQUI-ENANO*2/TEHUACAN-60
40	Amanos 97	Türkiye	1997	Turkish CV	OSTRERO//CELTA/YAVAROS,AUS
41	Kızıltan-91	Türkiye	1991	Turkish CV	UVEYIK-162/61-130//BARRIGON-YAQUI-ENANO*2/TEFLAMINGO,MEX/GARZA//CANDEAL-
42	Özberk	Türkiye	2005	Turkish CV	1/GREBE/3/CENTRIFEN/FLAMINGO,MEX/PETREL/5/AKBASAK-073-44/YERLI/6/CAR

43	Urfa-2005	Türkiye	2005	Turkish CV	Fg'S'/Gr'S'//Candeal I/4/Grebe 'S'/3/Ctfn/Fg'S'//Ptl 'S'/5/Akb.073.44/ye rli/6/Carc'S
44	Ceylan-95	Türkiye	1995	Turkish CV	STORK(SIB)/(SIB)RABICORNO
45	Salihli-92	Türkiye	1992	Turkish CV	SHWA//21563/ANHINGA/3/EGE-88; B.BAL//BARRIGON-YAQUI-ENANO*2/TEHUACAN-60
46	Gap	Türkiye	2004	Turkish CV	GEDIZ 75(SIB)/(SIB)FLAMINGO,MEX//(SIB)TEAL,MEX
47	Soylu	Türkiye	2012	Turkish CV	----
48	Ali baba	Türkiye	2010	Turkish CV	AWALI-2/BITTERN
49	Tunca-79	Türkiye	1979	Turkish CV	FATA(SEL.181-1)/ND-61-130//LEEDS
50	Saribasak	Türkiye	1970	Turkish CV	LV-TUR
51	Vatan	Tadjikistan	1978	Foreign CV	TADZHIKSKAYA-CHERNOKOLOSAYA/KHORANKA-46
52	Zenit	Italy	1992	Foreign CV	VALRICCARDO/VIC
53	Saragolia	Italy	2004	Foreign CV	IRIDE/LINEA-PSB-0114
54	Svevo	Italy	1996	Foreign CV	CIMMYT-SELECTION/ZENIT
55	Claudio	Italy	2011	Foreign CV	Sel.CIMMYT-35/Durango/ISEA-1938/Grazia
56	Baio	Italy	1998	Foreign CV	DUILLO/F-21//G-76
57	Ul-Darwin	USA	2006	Foreign CV	IDO-445/MANNING
58	UC1113	USA	2005	Foreign CV	KIFS//RSS/BD-1419/3/MEXIS-CP/4/WAHAS/5/YAVAROS-79
59	AC-Pathifinder	Canada	1999	Foreign CV	WESTBRED-881/DT-367; DT-367/WESTBRED-881
60	AC-Navigator	Canada	1999	Foreign CV	KYLE/WESTBRED-881
61	Floradur	Austria	2003	Foreign CV	HELIDUR/CIMMYT-4833
62	C9	West bank	---	Foreign CV	---
63	C43	West bank	---	Foreign CV	---
64	Inbar	West bank	1978	Foreign CV	D-27534/3/JORI(SIB)//LD-357-E/2*TEHUACAN-60; LD-357-E/2*TEHUACAN-60//JORI-69; D-27534-13-M-4-Y-1-M/3/JORI(SIB)//LD-357-E/2*TEHUACAN-60
65	Creso	Italy	1974	Foreign CV	60/4/CPB-144; CAPELLI-B-144/5/YAKTANA-54//(SELECTION-14)NORIN-10/BREVOR/3/CAPELLI-63/4/3*TEHUACAN-60; MARINGA/ZENATI/CPB-144
66	Simeto	Italy	1988	Foreign CV	CAPEITI-8/VALNOVA
67	Irde	Italy	1996	Foreign CV	ALTAR-84/IONIO; ALTAR-84/(SIB)ARES
68	Dylan	Italy	2002	Foreign CV	NEUDUR/ULISSE
69	Ofanto	Italy	1990	Foreign CV	ADAMELLO/APPULO
70	Cham-1	Syria	1984	Foreign CV	PELICANO/RUFF//GAVIOTA/ROLETTE; PELICANO(SIB)/(SIB)RUFF//
71	Cham-9	Syria	2010	Foreign CV	STJ3//BICRE/LOUKOS-4
72	TR 32090	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
73	TR 53861	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
74	TR 80984	Türkiye	---	Ex-situ	Eskişehir
75	TR 72025	Türkiye	---	Ex-situ	Konya
76	TR 81249	Türkiye	---	Ex-situ	Elaziğ

Supplementary Table 1. outlines 130 genotypes that were evaluated for Aluminum assessments, including the cultivars and landraces selected, their country of origins, release year, group, and pedigree (continued).

Ek çizelge 1. Alüminyum analizleri için incelenen 130 genotipi, seçilen modern ve yerel çeşitleri, orijin ülkeleri, piyasa çıkma yılı, grubu ve soyağacı dahil olmak üzere özetlemektedir (devam etti).

No	Name	Country	Year	Group	Pedigree/collection side/ growing locations
77	TR 81371	Türkiye	---	Ex-situ	Niğde
78	TR 71914	Türkiye	---	Ex-situ	Konya
79	TR 81356	Türkiye	---	Ex-situ	Konya
80	TR 81381	Türkiye	---	Ex-situ	Sivas
81	TR 45305	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
82	TR 46881	Türkiye	---	Ex-situ	Erzincan
83	TR 81259	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
84	TR 81273	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
85	TR 47949	Türkiye	---	Ex-situ	Kars
86	TR 54969	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
87	TR 63315	Türkiye	---	Ex-situ	Konya
88	TR 81238	Türkiye	---	Ex-situ	Erzincan
89	TR 56206	Türkiye	---	Ex-situ	Eskişehir

90	TR 56128	Türkiye	---	Ex-situ	Eskişehir
91	TR 54977	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
92	TR 54973	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
93	TR 53860	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
94	TR 56135	Türkiye	---	Ex-situ	Eskişehir
95	TR 32015	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
96	TR 31930	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
97	TR 32167	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
98	TR 35150	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
99	TR 31887	Türkiye	---	Ex-situ	Elazığ
100	TR 31902	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
101	TR 31893	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
102	TR 35148	Türkiye	---	Ex-situ	Yozgat
103	TR 81277	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
104	TR 81283	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
105	TR 81284	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
106	TR 81367	Türkiye	---	Ex-situ	Konya
107	TR 81374	Türkiye	---	Ex-situ	Konya
108	TR 81258	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
109	TR 81278	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
110	TR 81323	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
111	TR 81304	Türkiye	---	Ex-situ	Malatya
112	TR 81369	Türkiye	---	Ex-situ	Niğde
113	TR 81550	Türkiye	---	Ex-situ	Niğde
114	TR 81544	Türkiye	---	Ex-situ	Niğde
115	TR 81338	Türkiye	---	Ex-situ	Ankara
116	Bağacak	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
117	Menceki	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
118	Mersiniye	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
119	Sivaslan	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
120	Şırnak Alkaya	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
121	Kurtulan	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
122	Karadere	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
123	Hacıhalil	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
124	Hevidi	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
125	Beyaziye	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
126	Mısır	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
127	İskenderiye	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
128	Karakılçık	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
129	Havrani	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye
130	Levante	Türkiye	---	In-situ	Southeast of Türkiye

Supplementary Table 2. Information on the Simple Sequence Repeats primers utilized to screen polymorphic sequences, their chromosomal location, and repeat motif.

Ek çizelge 2. Basit Dizi Tekrarları Markörlerinin polimorfik dizileri, bunların kromozomal konunlarını ve tekrar motifi bilgileri.

	Primer Name	5'.....3'	Chromosomal Location	Repeat Motif
1	WMC120F	GGAGATGAGAAGGGGGTCAGGA	1A	(CA), (GA), (GT)
	WMC120R	CCAGGAGACCAGGTTGCAGAAG		
2	WMC231F	CATGGCGAGGAGCTCGGTGGTC	3B	GA)10 , (GT)8
	WMC231R	GTGGAGCACAGGCGGAGCAAGG		
3	WMC406F	TATGAGGGTCGGATCAATACAA	1B	(CA)16
	WMC406R	CGAGTTTACTGCAAACAAATGG		
4	WMC477F	CGTCGAAAACCGTACACTCTCC	2B	(GT)16
	WMC477R	GCGAAACAGAATAGCCCTGATG		
5	WMC1F	ACTGGGTGTTTGCTCGTTGA	3B/6A	(CT)(CA)
	WMC1R	CAATGCTTAAGCGCTCTGTG		
6	WMC361F	AATGAAGATGCAAATCGACGGC	2B	(CA)10
	WMC361R	ATTCTCGCACTGAAAACAGGGG		
7	WMC107F	GAATTCAGGCCCTTCTCGGA	7A	(GT)15

8	WMC107R CFA2147F CFA2147R	CATTGAACCTCGCATAACGG TCATCCCCTACATAACCGA ATCGTGCACCAAGCAATACA	1B/1D	(CATC)4
9	GWM156F GWM156R	CCAACCGTGCTATTAGTCATTC CAATGCAGGCCCTCCTAAC	3B/5AL/5BS	(GT)14
10	WMC296F WMC296R	GAATCTCATCTTCCCTTGCCAC ATGGAGGGGTATAAAGACACGG	2A	(GA)11 & , (GT)28
11	GWM304F GWM304R	AGGAAACAGAAATATCGCGG AGGACTGTGGGAATGAATG	2A/5A	(CT)22
12	WMC218F WMC218R	TCTCCTGTCGGCTGAAAAGTGTT CCATGGAGGTTACCTAGCAAA	7B	(TG)7CGTGC(GT)7
13	WMC128F WMC128R	CGGACAGCTACTGCTCTCCTTA CTGTTGCTTGCTCTGCACCCTT	1B	(GA)10 & , (GT)16
14	WMC262F WMC262R	GCTTTAACAAGATCCAAGTGGCAT GTAAACATCCAAACAAGTCGAACG	4AL	GA)29
15	WMC307F WMC307R	GTTTGAAGACCAAGCTCCTCCT ACCATAACCTCTCAAGAACCCA	3B	GT)8 (GA)13
16	WMC312F WMC312R	TGTGCCCGCTGGTGCGAAG CCGACGCAGGTGAGCGAAG	1A	(GA)14
17	WMC317F WMC317R	TGCTAGCAATGCTCCGGGTAAC TCACGAAACCTTTTCCTCCTCC	2BL	(GT)23
18	WMC31F WMC31R	GTTACACCGGTGATGACTCCA CTGTTGCTTGCTCTGCACCCTT	1B	(GA)11, (GT)19
19	WMC327F WMC327R	TGCGGTACAGGCAAGGCT TAGAACGCCCTCGTCGGA	5AL	(GT)25
20	GWM369F GWM369R	CTGCAGGCCATGATGATG ACCGTGGGTGTTGTGAGC	3A/4B/7B	(CT)11(T)2(CT)21
21	WMC476F WMC476R	TACCAACCACACCTGCGAGT CTAGATGAACCTTCGTGCGG	7B	(GT)7 118, (GT)25
22	WMC511F WMC511R	CGCACTCGCATGATTTTCTT ATGCCCCGAAACGAGACTGT	4BS	(GT)7, CGTG
23	WMC612F WMC612R	GAGGTCAGTACCCGGAGA CCACCCCAATTCAAAAAG	3B	
24	WMC626F WMC626R	AGCCATAAACATCCAACACGG AGGTGGGCTTGGTTACGCTCTC	1B	
25	WMC657F WMC657R	CGGGCTGCGGGGGTAT CGGTTGGGTCATTTGTCTCA	4B	
26	WMC662F WMC662R	AGTGGAGCCATGGTACTGATT TGTGTAATAATCCCGTCGGTCT	7B	
27	WMC727F WMC727R	CATAATCAGGACAGCCGCAC TAGTGGCCTGATGTATCTAGTTGG	5AL	
28	WMC75F WMC75R	GTCCGCCGACACATCTACTA GTTTGATCCTGCGACTCCCTTG	5B	(GT)13

Supplementary Table 2. Information on the Simple Sequence Repeats primers utilized to screen polymorphic sequences, their chromosomal location, and repeat motif (continued).

Ek çizelge 2. Basit Dizi Tekrarları Markörlerinin polimorfik dizileri, bunların kromozomal konumlarını ve tekrar motifi bilgileri (devam etti).

	Primer Name	5'.....3'	Chromosomal Location	Repeat Motif
29	BARC354F BARC354R	CGTTGTTTGCCTAGAAAGGAGGTT GCGAATGCGGGCGATAAAGTGG	6B	
30	CFA2191F CFA2191R	AGAGCAGGAGGTTGGTTCT CCGGAATTTCACTACCAGGA	3B	(TCCC)4
31	BARC85F BARC85R	GCGAACGCTGCCCGGAGGAATCA GCGTCGCAGATGAGATGGTGGAGCAAT	7B	(CAT)8
32	CFA2114F CFA2114R	ATTGGAAGGCCACGATACAC CCCGTCGGGTTTTATCTAGC	6A	(CA)32
33	CFD238F CFD238R	GTTGAGGAGGACAAAGAGGC GATACGAGCGAGCCATAAAA	2B	(GGGA)3
34	CFD242F CFD242R	CCAGTTTGACGAGTCACAT CAGACCTTAACGGGGTTGAA	7A	(GTT)15(AGC)5
35	GWM456F GWM456R	TCTGAACATTACACAACCCTGA TGCTCTCTGAACCTGAAGC	1B/3D	(GA)21

36	GWM375F GWM375R	ATTGGCGACTCTAGCATATACG GGGATGTCTGTTCCATCTTAGC	4B	
37	GWM513F GWM513R	ATCCGTAGCACCTACTGGTCA GGTCTGTTTCATGCCACATTG	4BL/5B/7BS	(CA)12
38	GWM77F GWM77R	ACCCTCTTGCCCCGTGTTG ACAAAGGTAAGCAGCACCTG	3BS	(CA)10 (GA)40
39	WMC553F WMC553R	CGGAGCATGCAGCTAGTAA CGCCTGCAGAATTCAACAC	6A	(CA)24
40	BARC77F BARC77R	GCGTATTCTCCCTCGTTTCCAAGTCTG GTGGGAATTTCTTGGGAGTCTGTA	3B	(ATCT)6
41	BARC78F BARC78R	CTCCCCGGTCAAGTTAATCTCT GCGACATGGGAATTTTCAAGTGCCTAA	4A	(TC)27(TATC)43
42	CFA2141F CFA2141R	GAATGGAAGGCGGACATAGA GCCTCCACAACAGCCATAAT	5A/5D	(GA)18
43	CFD7F CFD7R	AGCTACCAGCCTAGCAGCAG TCAGACACGTCTCTGACAAA	5B/5DL	(TC)27
44	CFD168F CFD168R	CTTCGCAAATCGAGGATGAT TTCACGCCCAGTATTAAGGC	2A/2D	(CTG)20
45	CFD71F CFD71R	CAATAAGTAGGCGGGACAA TGTGCCAGTTGAGTTTGCTC	4A/4D	(CA)10(GA)30
46	GWM293F GWM293R	TACTGGTTCACATTGGTGCG TCGCCATCACTCGTTC AAG	5AL/5B/5D/7B	(CA)24
47	WMC407F WMC407R	GGTAATTCTAGGCTGACATATGCTC CATATTTCCAAATCCCCAACTC	2A	(GA)16
48	WMC486F WMC486R	CCGGTAGTGGGATGCATTTT ATGCATGCTGAATCCGGTAA	6B	(GT)28
49	WMC517F WMC517R	ATCCTGACGTTACACGCACC ACCTGGAACACCACGACAAA	7B	(CA)
50	WMC522F WMC522R	AAAAATCTCACGAGTCGGGC CCCGAGCAGGAGTACAAAT	2A	(CT)
51	WMC524F WMC524R	TAGTCCACCGGACGGAAAGTAT GTACCACCGATTGATGCTTGAG	5A	(GT)
52	WMC532F WMC532R	GATACATCAAGATCGTGCCAAA GGGAGAAATCATTAAACGAAGGG	3A	(GA)
53	WMC592F WMC592R	GGTGGCATGAACTTTACCTGT TGTGTGGTGCCATTAGGTAGA	2B	
54	WMC596F WMC596R	TCAGCAACAAACATGCTCGG CCCGTGTAGGCGGTAGCTCTT	7A	
55	WMC616F WMC616R	TAAAGCTAGGAGATCAGAGGCG TAATCCCATCTTGAGAAGCGTC	5B	(XX)
56	WMC633F WMC633R	ACACCAGCGGGGATATTTGTTAC GTGCACAAGACATGAGGTGGATT	7A	(XX)

Supplementary Table 2. Information on the Simple Sequence Repeats primers utilized to screen polymorphic sequences, their chromosomal location, and repeat motif (continued).

Ek çizelge 2. Basit Dizi Tekrarları Markörlerinin polimorfik dizileri, bunların kromozomal konumlarını ve tekrar motifi bilgileri (devam etti).

	Primer Name	5'.....3'	Chromosomal Location	Repeat Motif
57	GWM124F GWM124R	GCCATGGCTATCACCCAG ACTGTTCCGGTCAATTTGAG	1B	(CT)27(GT)18
58	WMC335F WMC335R	TGCGGAGTAGTCTTCCCCC ACATCTTGGTGAGATGCCCT	7B	(CA)5G(CA)12
59	WMC364F WMC364R	ATCACAATGCTGGCCCTAAAAC CAGTGCCAAAATGTGCAAAGTC	7B	(CA)18
60	WMC658F WMC658R	CTCATCGTCTCCTCCACTTTG GCCATCCGTTGACTTGAGGTTA	2A	(XX)
61	WMC73F WMC73R	TTGTGCACCGCACTTACGTCTC ACACCCGGTCTCCGATCCTTAG	5B	(CA)9
62	WMC83F WMC83R	TGGAGGAAACACAATGGATGCC GAGTATCGCCGACGAAAGGGAA	7A	(GT)28
63	BARC89F BARC89R	GGGCGCGGCACCAGCACTACC CTCCGAGGCCACCGAAGACAAGATG	5B	(TCA)11
64	BARC74F	GCGCTTGCCCTTACAGGCGAG	5B	(GA)13(GATA)7(GA)9

	BARC74R	CGCGGGAGAACCACCAGTGACAGAGC		
65	CFA2028F	TGGGTATGAAAGGCTGAAGG	7A	(CA)21
	CFA2028R	ATCGCGACTATTCAACGCTT		
66	GWM130F	AGCTCTGCTTCACGAGGAAG	2B/7A/7D	(GT)22
	GWM130R	CTCCTCTTTATATCGCGTCCC		
67	CFA2183F	TCTTGGATGGATTTGTGAGC	3A	(CA)26
	CFA2183R	TTCCTTCTCCTTCATTAGCTGC		
68	CFA2234F	AATCTGACCGAACAAAATCACA	3A	(CA)17
	CFA2234R	TCGGAGAGTATTAGAACAGTGCC		
69	CFA2263F	GGCCATGTAATTAAGGCACA	2AL	(CA)24
	CFA2263R	CTCCCAGGAGTACAGAAGAGGA		
70	WMC397F	AGTCGTGCACCTCCATTTTG	6B	(CA)
	WMC397R	CATTGGACATCGGAGACCTG		
71	BARC181F	CGCTGGAGGGGGTAAGTCATCAC	1B	(CT)17
	BARC181R	CGCAAATCAAGAACACGGGAGAAAAGAA		
72	WMC311F	GGGCCTGCATTTCTCCTTTCTT	7B	(GT)12
	WMC311R	CTGAACTTGCTAGACGTTCCGA		
73	WMC181F	TCCTTGACCCCTTGACTAACT	2A	(GT)19, (GT)10
	WMC181R	ATGGTTGGGAGCACTAGCTTGG		
74	WMC11F	TTGTGATCCTGGTTGTGTGTGA	3A/3D	(CT)
	WMC11R	CACCCAGCCGTTATATATGTTGA		
75	GWM388F	CTACAATTGGAAGGAGAGGGG	2B	(CT)4(CA)11(CA)12
	GWM388R	CACCGCGTCAACTACTTAAGC		
76	WMC76F	CTTCAGAGCCTCTTTCTCTACA	7B	(GT)
	WMC76R	CTGCTTCACTTGCTGATCTTTG		
77	GWM333F	GCCCCGGTCATGTAACG	7B	(GA)19
	GWM333R	TTTCAGTTTGCCTTAAGCTTTG		
78	GWM335F	CGTACTCCACTCCACACGG	5B	(GA)14(GCGT)3
	GWM335R	CGGTCCAAGTGCTACCTTTC		
79	GWM294F	GGATTGGAGTTAAGAGAGAACCG	2AL	(GA)9TA(GA)15
	GWM294R	GCAGAGTGATCAATGCCAGA		
80	GWM630F	GTGCCTGTGCCATCGTC	2A/2B	(GT)16
	GWM630R	CGAAAGTAACAGCGCAGTGA		
81	CFD60F	TGACCGGCATTCAGTATCAA	5B/6D	(CA)25
	CFD60R	TGGTCACTTTGATGAGCAGG		
82	CFD73F	GATAGATCAATGTGGGCCGT	2B/2D	(CT)19
	CFD73R	AACTGTTCTGCCATCTGAGC		



Katı Faz Fermantasyonunun Çayır Otu Besin Madde İçeriği ve Anti-Metanojenik Özelliklerine Etkisi

Effect of Solid State Fermentation on Meadow Grass Nutrient Content and Anti-Methanogenic Properties

Ali İhsan Atalay¹ ID, Ramazan Tosun² ID, Ali Kaya³ ID

Geliş Tarihi (Received): 25.01.2023

Kabul Tarihi (Accepted): 03.05.2023

Yayın Tarihi (Published): 21.08.2023

Öz: Bu çalışmada, çayır otunun 3 farklı fermantasyona uğratarak yem değeri üzerine olan etkisinin tespiti amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda çayır otu; silaj suyu (SS), peynir altı suyu (PAS) ve PAS+SS (1:1) ile %70 nem içeriğinde 30 günlük fermantasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyonun 0. 15. ve 30. günlerinde örnekler alınarak kimyasal ve *in vitro* gaz üretimindeki değişiklikler tespit edilmiştir. Kimyasal analiz sonucunda ham kül içeriği 30. gün örneklerde SS fermantasyonunda artarken, PAS fermantasyonunda azalmıştır. Fermantasyonun NDF ve ADF içerikleri üzerine etkisini 15. gün örneklerde önemli bulunmuştur. Selüloz içeriğine bakıldığında ise SS fermantasyonunda arttığı, PAS+SS fermantasyonunda ise azaldığı tespit edilmiştir. Fermantasyonun gaz üretimine etkisi incelendiğinde ise 0. gün örneklere göre SS fermantasyonunda azaldığı, PAS fermantasyonunda ise 15. gün örneklerinde artmasına rağmen 30. gün örneklerinde azaldığı saptanmıştır. SS fermantasyonu % metan üretimini artırırken, PAS fermantasyonu net metan ve % metan içeriğini azaltmıştır. SS ve PAS ile yürütülen fermantasyonların gerçek sindirim derecesi, gerçek sindirilebilir kuru madde, taksimat faktörü, mikrobiyal protein ve mikrobiyal protein sentezleme etkinliği üzerine pozitif etkisi olmuştur. Fermantasyon sırasında açığa çıkan enterik metan hem küresel ısınmaya hem de yemin enerji kaybına neden olmasından dolayı hem çevreciler ve hem de hayvan beslemeciler tarafından arzu edilmemektedir. Metan gazı karbondioksit gazından sonra küresel ısınmaya neden olan ikinci gazdır. SS fermantasyonun metan içeriğini artırdığı, PAS ve PAS+SS ile yürütülen fermantasyonlarda azaldığı saptanmıştır. Sonuç olarak, katı faz fermantasyonu ile özellikle de PAS fermantasyonu sonucunda çayır otunun içeriğinin iyileştiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: çayır otu, *in vitro* gaz üretimi, katı faz fermantasyon, metan, mikrobiyal protein

&

Abstract: This study aimed to determine the effect on the feed value by three different fermentation of meadow grass. For this purpose, meadow grass was subjected to 30 days of fermentation with silage water (SS), whey (PAS) and PAS+SS (1:1) at 70% moisture content. Changes in chemical and *in vitro* gas production were determine by taking samples at 0, 15 and 30 days of fermentation. As a result of chemical analysis, while the crude ash content increased in SS fermentation in 30th day samples, decreased in PAS fermentation. The effect of fermentation on NDF and ADF contents was found significant in the 15th day samples. Considering the cellulose content, it increased in SS fermentation and decreased in PAS+SS fermentation. When the effect of fermentation on gas production was examined, it was determined that it decreased in SS fermentation compared to the 0th day samples, and decreased in the 30th day samples, although it increased in the 15th day samples in the PAS fermentation. While SS fermentation increased % methane production, PAS fermentation decreased net methane and % methane content. Fermentations carried out with SS and PAS had a positive effect on the true substrate digestibility, true dry matter digestion, partitioning factor, microbial protein yield and efficiency. Enteric methane, which is released during fermentation, is not desired by both environmentalists and animal nutritionists because it causes both global warming and energy loss of feed. Methane gas is the second gas that causes global warming after carbon dioxide gas. It was determined that SS fermentation increased the methane content and decreased in fermentations carried out with PAS and PAS+SS. As a result, it can be said that the content of meadow grass is improved as a result of solid state fermentation, especially PAS fermentation.

Keywords: meadow grass, *in vitro* gas production, solid state fermentation, methane, microbial protein

Atıf/Cite as: Atalay, A.I., Tosun, R., & Kaya, A. (2023) Katı Faz Fermantasyonunun Çayır Otu Besin Madde İçeriği ve Anti-Metanojenik Özelliklerine Etkisi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 9 (2), 278-288. doi: 10.24180/ijaws.1242317

İntihal-Plagiarizm/Etik-Ethic: Bu makale, en az iki hakem tarafından incelenmiş ve intihal içermediği, araştırma ve yayın etiğine uyulduğu teyit edilmiştir. / This article has been reviewed by at least two referees and it has been confirmed that it is plagiarism-free and complies with research and publication ethics. <https://dergipark.org.tr/pub/ijaws>

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2015 – Bolu

¹ Doç. Dr. Ali İhsan ATALAY, İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölüm, alihsanatalay66@hotmail.com (Sorumlu Yazar / Corresponding author)

² Arş. Gör. Ramazan TOSUN İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölüm ramazantosun68@gmail.com

³ Arş. Gör. Ali KAYA Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü alikaya@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Kaba yemler hayvan beslemesinde vazgeçilmez yem kaynağıdır. Ucuz ve kaliteli kaba yeme kolay ulaşılabilirlik açısından ülke hayvancılığının kaba yem açığı/sorunu olduğu aşikardır. Söz konusu problemin çözümü için ya alternatif kaba yemler (Atalay vd., 2018; Kaya ve Kamalak, 2019; Atalay ve Kamalak, 2019; Keskin vd., 2021a,b; Beyzi vd., 2022) ya da mevcut düşük kaliteli kaba yemlerin (saman, mısır sapı vb.) kalitesinin artırılmasına yönelik araştırmalar yapılmaktadır (Abera vd., 2018; You vd., 2019; Du vd., 2019; Khonkhaeng ve Cherdthong 2020; Datsomor vd., 2022; Canbolat, 2022). Mevcut kaba yemlerin kalitesini artırmaya yönelik fiziksel (Sarnklong vd., 2010; Du vd., 2019), kimyasal (Abera vd., 2018; You vd., 2019; Canbolat, 2022) ve biyolojik yöntemler (Ke vd., 2011; Khonkhaeng ve Cherdthong 2020; Datsomor vd., 2022) başta olmak üzere birçok yöntem araştırılmaktadır. Biyolojik yöntemlerin fiziksel ve kimyasal yöntemlere göre ekonomik ve çevre güvenliği açısından daha avantajlı bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Sufyan vd., 2021). Biyolojik yöntemlerden birisi de katı faz fermantasyon (KFF) metodudur. Katı faz fermantasyon kısaca suyun olmadığı veya çok az olduğu ortamda mikroorganizmaların kendi doğal ortamındaki gibi faaliyetini sürdürmesi olarak tanımlanabilir (Pandey, 2003). KFF yönteminin gıda, yem, ilaç sektörü başta olmak üzere birçok alanda kullanımı yaygınlaşmıştır (Datsomor vd., 2022; Carrillo-Diaz vd., 2022).

Hayvan besleme açısından besleme değeri düşük kaliteli yemlerin çeşitli mikroorganizmalar ile ideal koşullar altında fermantasyona tabi tutulduğunda lignin, selüloz ve hemiselüloz gibi yapısal karbonhidratların azaltılabileceği, besin madde içerikleri ve sindirilebilirliğinin iyileştirilebileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Ke vd., 2011; Yaşar ve Tosun, 2020; Sufyan vd., 2021; Datsomor vd., 2022; Carrillo-Diaz vd., 2022). Kolza samanı ile *G. lucidum* ve *C. utilis* karışımının fermantasyonu sonucunda kolza samanının ham protein içeriğinin %226 (%4,98'den %16,23'e) oranında arttığı belirtilmiştir (Ke vd., 2011). Datsomor vd. (2022) tarafından yürütülen araştırmada çeltik samanını mikroorganizma kullanmadan (kontrol), *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium* ve her iki fungalın karışımı ile 30 günlük fermantasyona uğratmışlardır. Fermantasyon sonucunda kontrol grubuna göre mikroorganizma kullanılan fermantasyonlarda ham protein içeriği yaklaşık %27-31 oranında, ham kül içeriğinde ise %17-44 oranında artma olduğunu saptamışlardır. Fermantasyon sonunda çeltik samanının kuru madde, organik madde, NDF, ADF, ADL, selüloz ve hemiselüloz içeriğinin önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir. Diğer taraftan kontrol grubuna göre *Pleurotus ostreatus* ve iki fungal karışımının *in vitro* kuru madde sindirimini, uçucu yağ asiti ve gaz üretimi artarken *Phanerochaete chrysosporium* ile yürütülen fermantasyonda azaldığı saptanmıştır. Buğday samanı ve talaşın yapısal karbonhidratların azaltılması ve sindirilebilirliğini artırmak amacıyla yürütülen bir fermantasyonda *L. edodes* ile 12 haftalık fermantasyona uğratılmıştır (van Kuijk vd., 2016). Fermantasyon sonucunda buğday samanının ADL içeriği %81, hemiselüloz %66 oranında azalırken selüloz içeriği %13, gaz üretimi %23 oranında arttığı saptanmıştır. Benzer şekilde talaşında ADL içeriği %46, hemiselüloz içeriği %25 oranında azalırken gaz üretimi %228 oranında arttığı tespit edilmiştir. Sufyan vd. (2021) yürüttükleri çalışmada buğday samanı, çeltik samanı ve mısır sapını 3 farklı fungal mikroorganizma (*P. eryngii*, *P. ostreatus* ve *P. florida*) ile 30 gün katı faz fermantasyona maruz bırakarak besin madde içeriğine ve sindirilebilirliğine etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda en fazla ligninin parçalandığı, beslenme değeri ve sindirilebilirliklerinin iyileştiği fermantasyonların buğday ve çeltik samanının *P. ostreatus* ile mısır sapının ise *P. florida* ile yürütülenlerde olduğu saptanmıştır.

Literatürdeki bilgiler doğrultusunda bu çalışmada, Doğu Anadolu bölgesinin kuzeyinde yaygın olarak yetişen çayır otunun peynir altı suyu, silaj suyu ve her ikisinin karışımı (1:1) ile 30 gün katı faz fermantasyona tabi tutarak besin madde ve sindirilebilirliği üzerine etkisinin tespiti amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çayır otu Iğdır Üniversitesi Şehit Bülent Yurtseven kampüsündeki 3 bin dönümlük mera alanından 10 farklı noktadan alınarak homojen bir hal alacak şekilde karıştırılmıştır. Toplanan çayır otu oda sıcaklığında kurutulmuş ve 2-3 cm boyutunda olacak şekilde parçalanmış ve homojenliği sağlayana kadar karıştırılmıştır. Kurutulan ve parçalanmış örnekler 121 °C'de 30 dk otoklavlanmış ve oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmaya bırakılmıştır.

Fermentasyon çalışmasında kullanılan peynir altı suyu (PAS) Iğdır ilinde faaliyet gösteren özel bir süt ürünleri fabrikasından temin edilmiştir. Silaj suyu (SS) ise Iğdır Üniversitesi Zootehni laboratuvarında bulunan mısırsız silaj örneklerinin 1/10 oranında sulandırılarak 10 dk çalkalanması ve süzülmesi ile elde edilmiştir.

Fermentasyona hazırlanan inokulant ve substratların herbiri 3 tekerrürlü olacak şekilde plastik kavanozlara doldurularak homojen olacak şekilde karıştırılmış ve Çizelge 1’de verilen koşullar altında fermentasyona bırakılmıştır. 0. gün fermentasyonda inokulant ile substrat homojen olarak karıştırıldıktan sonra hemen kurutma fırınına aktarılarak kurutulmuştur.

Çizelge 1. Fermentasyon koşulları ve deneme deseni.

Table 1. Fermentation conditions and experiment design.

Parametre	Deneme 1	Deneme 2	Deneme 3
İnokulant	PAS	SS	PAS+SS (1:1)
pH	6.07±0.18	5.19±0.18	5.55±0.18
Nem, %	70.08±0.179	69.78±0.179	69.52±0.179
Sıcaklık, °C		37±2 °C	
Karıştırma		Günde 5 dk 100 rpm	
Örnekleme periyodu, gün		0, 15 ve 30	

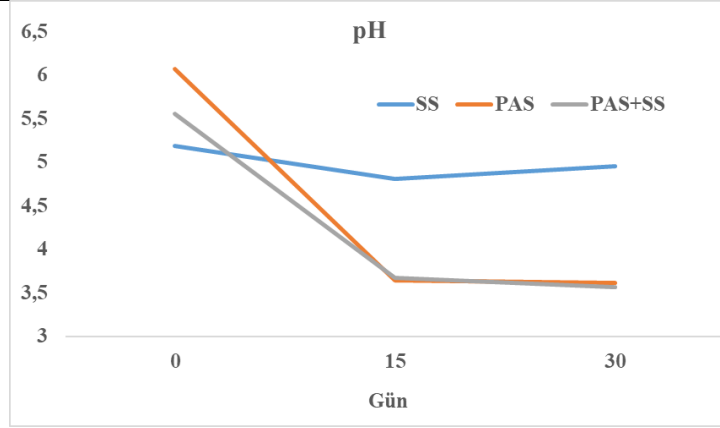
PAS: peynir altı suyu, SS: silaj suyu

Fermentasyonun 0, 15 ve 30. gününde alınan örnekler 60 °C’de kurutulup 1 mm elekten geçirilerek öğütülmüş ve analizler için hazır hale getirilmiştir. Yemlerin kuru madde (KM), ham kül (HK) ve ham protein (HP) analizi AOAC (1990) tarafından bildirilen yöntemle, NDF, ADF ve ADL içerikleri Van Soest vd. (1991) bildirdiği metoda göre, selüloz içeriği ise ADF ve ADL içerikleri kullanılarak hesap yolu ile tespit edilmiştir (Karabulut ve Canpolat, 2005). *In vitro* gaz üretiminin (İVGÜ) ölçümleri ise Menke ve Steingass, (1988) gaz üretim tekniği ile tespit edilmiştir. Metan içeriği ise Goel vd. (2008) metoduna göre S-AMG 1010 cihazında % ve ml olarak tespit edilmiştir. *In vitro* gaz ölçümlerinde kullanılan rumen sıvısı kesimhaneden kesim işleminin ardından alınmış ve hemen kullanılmıştır. Gerçek sindirilebilir kuru madde miktarı (GSKM), taksimat faktörü (TF), mikrobiyal protein üretimi (MP) ve sentezleme etkinliği (MPSE) Blümmel vd. (1997) ile Vercoe vd. (2010)’nın bildirdiği metotlara göre yapılmıştır. Organik madde sindirimi (OMS) Menke ve Steingass (1988), kuru madde sindirimi (KMS), kuru madde tüketimi (KMT) ve nispi yem değeri (NYD) ise Rohweder vd., (1978) tarafından bildirilen eşitliklik kullanılarak hesaplanmıştır.

Çalışma sonucunda örneklerin kimyasal bileşimleri ve gaz üretimlerine ait sonuçlar ONE-WAY-ANOVA ile varyans analizine tabi tutulmuş, muamele grupları arasındaki farklar Tukey (SPSS, 2016) çoklu karşılaştırma testiyle karşılaştırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çayır otunun PAS ve PAS+SS fermentasyonlarında pH değeri önemli derecede düşmüştür (Şekil 1) (P<0.001). Bu çalışmadaki pH değerindeki düşüş literatürde laktik asit bakterileri ile yürütülen fermentasyon çalışmalarının sonuçları ile benzerlik içindedir (Jonh vd., 2006; Bartkiene vd., 2014; Yaşar ve Tosun, 2018). Laktik asit bakterileri ile yürütülen fermentasyonlarda mikroorganizmaların organik asit (özellikle de laktik asit) üretimi ve CO₂ salınımı neticesinde pH değerinin önemli derecede düştüğü bilinmektedir (Joseph vd., 2008; Yaşar ve Tosun, 2018). Bu çalışmada da organik asit üretimi ve CO₂ salınımının pH değerinin düşmesine neden olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 1. Fermantasyon süresince pH değerinde gözlemlenen değişim.

Figure 1. Observed change in pH value during fermentation.

Çayır otu ile yürütülen 3 farklı fermantasyon sonucunda besin madde içeriklerinde istatistiksel olarak önemli değişiklikler tespit edilmiştir (Çizelge 2) ($P < 0.001$).

Çayır otu ile yürütülen tüm fermantasyonlarda KM ve HP içeriklerinde rakamsal bir değişiklik olsa da istatistiksel olarak fark önemsiz bulunmuştur. Çayır otunun SS ile yürütülen fermantasyonunda HK içeriği artmıştır. En fazla artış ise fermantasyonun 15. gününde %11 oranında olmuştur. Diğer taraftan SS ile yürütülen fermantasyonun aksine PAS ile yürütülen fermantasyonda HK içeriği azalmıştır. En fazla azalma ise fermantasyonun 15. gününde %12 oranında olduğu saptanmıştır. PAS+SS ile yürütülen fermantasyonlarda ise HK içeriğinde bir değişim tespit edilmemiştir. Fermantasyonun yapısal karbonhidratlara etkisi incelendiğinde SS ile yürütülen fermantasyonlarda çayır otunun ADF ve selüloz içerikleri fermantasyon süresi boyunca artmıştır. NDF içeriği ise fermantasyonun ilk 15. gününde artmasına rağmen daha sonra 0. gün NDF içeriği ile istatistiksel bir fark olmayacak kadar azalmıştır. PAS ile yürütülen fermantasyonlarda ise NDF ve ADF içerikleri fermantasyonun ilk 15. gününde azalmıştır. Ancak fermantasyonun ilerleyen zamanında (15-30. günler arası) NDF ve ADF içeriklerinde artmış ve 0. gündeki NDF ve ADF içerikleri ile aralarında farklılık tespit edilememiştir.

Çizelge 2. Fermantasyonun çayır otu besin madde içeriğine etkisi (%KM).

Table 2. Effect of fermentation on nutrient content of meadow grass (%DM).

İnokulant	Gün	KM (%)	HK (%)	HP (%)	NDF (%)	ADF (%)	ADL (%)	Selüloz (%)
SS	0	30.22	13.18 ^e	12.55	61.76 ^b	32.71 ^{bc}	4.61 ^{ab}	28.10 ^{cd}
	15	30.20	14.68 ^b	13.33	65.55 ^a	36.55 ^{ab}	3.65 ^b	32.90 ^{ab}
	30	28.97	14.12 ^{bcd}	13.33	64.02 ^{ab}	38.53 ^a	4.80 ^{ab}	33.73 ^a
PAS	0	29.92	15.40 ^a	12.82	55.46 ^{cd}	30.94 ^{cd}	4.63 ^{ab}	26.30 ^{cd}
	15	30.75	13.56 ^{de}	13.84	50.44 ^e	27.28 ^d	3.10 ^b	24.18 ^d
	30	28.74	14.18 ^{bcd}	13.17	52.83 ^{de}	31.74 ^{cd}	3.64 ^b	28.10 ^{cd}
PAS+SS	0	30.48	14.39 ^{bc}	12.94	58.04 ^c	33.68 ^{bc}	4.90 ^{ab}	28.79 ^{bc}
	15	29.86	13.90 ^{cd}	13.33	57.45 ^c	31.51 ^{cd}	2.78 ^b	28.73 ^{bc}
	30	29.45	14.22 ^{bc}	13.87	58.18 ^c	29.93 ^{cd}	6.06 ^a	23.87 ^d
p değeri		0.087	0.000	0.087	0.000	0.000	0.002	0.000
SHO		0.179	0.124	0.116	0.936	0.676	0.229	0.674

^{abcde} Aynı harflere sahip ve aynı sütün yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ($P < 0.05$), SHO: Standart hata ortalaması, KM: Kuru madde; HK: Ham kül; HP: Ham protein; NDF: Nötr çözücülerde çözünmeyen lifli bileşikler; ADF: Asit çözücülerde çözünmeyen lifli bileşikler; ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lignin.

Çayır otunun PAS ile fermantasyonunda selüloz içeriğinde önemli bir değişim saptanmamıştır. PAS+SS ile yürütülen fermantasyonlarda ise NDF ve ADF içeriklerinde istatistiksel bir farklılık olmamıştır. Selüloz içeriğinin ise ilk 15. günde farklılık olmamasına rağmen fermantasyonun ilerleyen aşamasında %17

oranında azaldığı saptanmıştır. Çayır otunun SS ve PAS ile yürütülen fermantasyonlarında ADL içeriklerinde rakamsal bir değişiklik olsa da istatistiksel olarak farklılık önemsiz bulunmuştur. PAS+SS fermantasyonunda ise 15 ve 30 gün örnekleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmiştir.

Çayır otunun HK içeriği SS fermantasyonunda artarken PAS fermantasyonunda azalmıştır. Literatürdeki sonuçlara bakıldığında HK içeriği çok fazla değişkenlik göstermektedir (Olukomaiye vd., 2020; Terefe vd., 2021). Uvere vd. (2009) fermantasyon sırasında mikroorganizma ve enzim aktivitelerinden dolayı organik madde kaybı neticesinde inorganik maddede artış olabileceğini belirtmiştir. Terefe vd. (2021) ise fermantasyon koşullarına ve fermantasyonda kullanılan mikroorganizmaya bağlı olarak inorganik madde içeriklerinin değişebileceğini, bazı mikroorganizmaların fermantasyon esnasındaki faaliyetlerinde inorganik maddeleri kullanarak azalttığını bazı mikroorganizmaların ise tamamen organik maddeler üzerinde faaliyet göstermesi sonucunda toplam kütlede inorganik maddede artışın olabileceğini bildirmişlerdir. Çayır otunun SS ile yürütülen fermantasyonunda da suda çözünebilir organik maddelerin kaybı neticesinde HK içeriğinde artış olduğu düşünülmektedir. Ancak PAS ile yürütülen fermantasyonda ise mikroorganizmaların faaliyetleri esnasında inorganik maddeleri kullandığı ve sonucunda HK içeriğinin azaldığı düşünülmektedir. SS ve PAS ile yürütülen fermantasyonların HK içeriklerindeki farklılığı ise inokulant farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Fermantasyonun yapısal karbonhidratlara etkisi incelendiğinde SS ile yürütülen fermantasyonlarda NDF, ADF ve selüloz içeriklerinde artma, PAS ile yürütülen fermantasyonda ise NDF içeriğinde azalma gözlenmiştir. PAS+SS ile yürütülen fermantasyonunda ise ADL içeriği 15. günden sonra artmıştır, bu artmaya bağlı olarak selüloz içeriği düşmüştür. Literatürdeki çalışmalar irdelendiğinde mikrobiyal fermantasyon sonucunda yapısal karbonhidratların azalabileceğine dair sonuçlar mevcuttur (Xie vd. 2016; Kutshik vd., 2016; Nasehi vd., 2017). Birçok araştırmacı bu azalmanın mikroorganizmaların (özellikle de fungal) fermantasyon sırasında ekstraselüler enzimleri salgıladıklarını ve bu enzimlerinde ADF, NDF, ADL ve ham selüloz gibi bileşikleri parçalamasından kaynaklandığını belirtmişlerdir (Lynch vd., 2014; Shrivastava vd., 2014; Nasehi vd., 2017). Ancak, Ramli vd. (2005) ve Olukomaiya vd. (2020a,b) mikrobiyal fermantasyonlarda NDF, ADF ve ham selülozun artabileceğini bu artmanın şeker gibi basit karbonhidratların ve sekonder metabolitlerin parçalanmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. SS ile yürütülen fermantasyon çalışmasındaki NDF ve ADF içeriğinin artması Ramli vd. (2005) ve Olukomaiya vd. (2020a,b) çalışmalarının sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu artmanın basit karbonhidratların ve sekonder metabolitlerin parçalanması sonucunda kütleli bir artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan PAS ile yürütülen fermantasyonda NDF içeriğinin azalması literatürdeki birçok çalışma ile paralellik içerisindedir (Lynch vd., 2014; Shrivastava vd., 2014; Nasehi vd., 2017).

Çayır otunun katı faz fermantasyon sonucunda net gaz, metan (ml), % metan, GSKM, TF, MP, EMP ve GSD değerleri önemli derecede etkilenmiştir (Çizelge 3) ($P<0.001$). Çizelge 3'de verilen 0. gün besin maddelerinin farklı olmasının nedeni fermantasyonda kullanılan inokulant içeriklerinden kaynaklanmaktadır. Çayır otunun SS ile yürütülen fermantasyonda fermente son ürünlerinin (30. gün) gaz üretimi 0. gün gaz üretimine göre %14 oranında düştüğü saptanmıştır. PAS ile yürütülen fermantasyonda ise net gaz üretimi 15. gün örneklerinde %6 oranında artmasına rağmen 30. gün örneklerinde azalarak 0. gün net gaz üretimine göre istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir. PAS+SS ile yürütülen fermantasyonun net gaz üretimine etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çayır otunun SS ile fermantasyonunda net metan üretimi fermantasyon süresince artarken, PAS ve PAS+SS ile yürütülen çalışmalarda net metan üretimi 30. gün örneklerinde sırasıyla %5.5 ve %3.7 oranında azaldığı belirlenmiştir. Fermantasyonun % metan üretimine etkisi incelendiğinde SS ile yürütülen fermantasyon sonunda elde edilen fermente ürünün % metan üretimini %18 oranında artmıştır. PAS fermantasyonunun % metan üretimine etkisi ise çok değişkenlik göstermiştir. 15. gün örneklerinde %10 oranında düşüş saptanmış ancak 30. gün fermente örneklerde bu düşüş tespit edilememiştir. PAS+SS ile yürütülen fermantasyonda % metan üretimi fermantasyon boyunca azaldığı saptanmıştır. Gerçek sindirilebilir kuru madde (GSKM) SS fermantasyonunda 15. gün fermente üründe %18 oranında düşüş olmasına rağmen 30.

gün fermente üründe 0. güne göre etkisinin olmadığı saptanmıştır. PAS fermantasyonunda ise %11 oranında artmıştır. Fermantasyonun TF'ye etkisi incelendiğinde SS ve PAS fermantasyonu TF' yi %15-16 oranında artırmıştır. PAS+SS fermantasyonunda ise 15. gün örneklerde azaldığı belirlenmiş ancak 30. gün örneklerinde bu azalma olmamıştır. MP fermantasyon sonunda SS'de %29, PAS'da ise %55 oranında artış olmuştur. MP'nin artışına bağlı olarak MPSE de SS ve PAS fermantasyonlarında %30-40 oranında artma olmuştur. PAS+SS fermantasyonunda MP ve MPSE 15. gün örneklerde azalmıştır. Fermantasyonun GSD üzerine etkisi ise SS fermantasyonunun 15. günde düşmesine rağmen 30. gün fermente üründe 0. gündeki örneklerle arasında farklılık olmadığı saptanmıştır. PAS fermantasyonunda ise yaklaşık %12 oranında GSD iyileşmiştir.

Çizelge 3. Fermantasyonun çayır otu net gaz, metan (ml ve %), GSKM, TF, MP, MPSE ve GSD'ye etkisi.

Table 3. Effect of fermentation on net gas, methane (ml and %), GSKM, TF, MP, MPSE and GSD of meadow grass.

İnokulant	Gün	Net Gaz (ml)	Net Metan (ml)	Metan (%)	GSKM (mg)	TF	MP (mg)	MPSE (%)	GSD (%)
SS	0	35.52 ^d	19.24 ^{ab}	21.35 ^b	266.64 ^b	3.23 ^{bc}	84.77 ^b	31.79 ^{bc}	52.56 ^b
	15	30.32 ^e	19.38 ^a	25.41 ^a	219.25 ^c	3.13 ^{cd}	65.24 ^c	29.76 ^{bcd}	43.56 ^c
	30	30.44 ^e	19.44 ^a	25.24 ^a	265.00 ^b	3.75 ^a	109.53 ^a	41.30 ^a	52.37 ^b
PAS	0	40.27 ^b	19.43 ^a	19.24 ^{de}	271.30 ^b	2.93 ^d	67.43 ^{bc}	24.85 ^d	54.09 ^b
	15	42.86 ^a	18.87 ^{ab}	17.21 ^f	298.35 ^a	2.96 ^d	76.87 ^{bc}	25.76 ^d	58.27 ^a
	30	39.12 ^b	18.35 ^b	18.92 ^e	300.01 ^a	3.37 ^b	104.21 ^a	34.68 ^b	60.49 ^a
PAS+SS	0	37.62 ^c	19.33 ^a	20.23 ^c	271.24 ^b	3.09 ^{cd}	78.37 ^{bc}	28.89 ^{cd}	53.39 ^b
	15	37.34 ^c	18.83 ^{ab}	20.02 ^{cd}	252.84 ^b	2.93 ^d	62.90 ^c	24.79 ^d	50.16 ^b
	30	37.86 ^c	18.62 ^{ab}	19.71 ^{cde}	270.00 ^b	3.08 ^{cd}	76.32 ^{bc}	28.53 ^{cd}	53.52 ^b
p değeri		0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
SHO		0.777	0.091	0.518	4.573	0.050	3.233	1.026	0.914

^{abcde} Aynı harflere sahip ve aynı sütün yer alan ortalamalar arasında fark yoktur (P<0.05), SHO: Standart hata ortalaması, GSKM: Gerçek sindirilen kuru madde; TF: Taksimat faktörü; MP: Mikrobiyal protein; MPSE: Mikrobiyal protein sentezleme etkinliği; GSD: Gerçek sindirim derecesi.

Çayır otunun SS ile fermantasyonu sonucunda gaz üretiminin düştüğü, PAS fermantasyonunun 15. gün örneklerinde ise arttığı saptanmıştır. SS ile yürütülen fermantasyondaki gaz içeriğinin düşüşünün KFF'de kolay sindirilebilir karbonhidratların parçalandığı ve toplam kütlede sindirimi düşük ADF ve NDF gibi yapısal karbonhidratların artması neticesinde gaz üretiminin düşük olmasının etkisi olduğu düşünülmektedir. Çünkü Nasehi vd. (2017) ADF ve NDF ile gaz üretimi arasında negatif korelasyon olduğunu ve KFF'de depo karbonhidratların parçalanmasının fermente ürünün gaz içeriğini düşürebileceğini belirtmişlerdir. Nitekim SS fermantasyonunda da NDF ve ADF içeriğinin artışına paralel olarak gaz üretiminin düştüğü, PAS fermantasyonunda ise 15. gün örneklerinde NDF ve ADF içeriğinin düştüğü gaz üretiminin ise arttığı saptanmıştır. PAS fermantasyonunun 30. gün örneklerinde ise NDF ve ADF içeriklerinin arttığı ve gaz üretiminin düştüğü tespit edilmiştir. Çayır otu fermantasyonunun gaz üretimine etkisi Nasehi vd. (2017) tarafından yürütülen fermantasyon çalışmasının sonuçlarına uyum göstermektedir. Bu çalışmada gaz üretiminin düşüşü toplam kütlede yapısal karbonhidrat miktarının artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Menke ve Steingass (1988) yaptıkları bir çalışmada toplam gaz üretiminin HK ve NÖM ile ters ilişkili olduğunu bildirmiştir. Yani HK ve NÖM içeriği fazla olan yemlerin toplam gaz üretimi düşük olmaktadır. Fermantasyon sırasında açığa çıkan gaz, direkt ve indirekt olmak üzere iki şekilde oluşmakta olup; açığa çıkan gaz miktarının fermente olan besin madde miktarına bağlı olduğu bilinmektedir. Yemin içerisinde ne kadar fazla fermente olabilen madde varsa o kadar fazla gaz üretimi olmaktadır (Cengiz ve Kamalak 2020). Ruminant beslemede diğer bir önemli gazda metandır. Yemlerin antimetanojenik özelliğe sahip olması hayvan besleme ve çevre açısından önemlidir. Çünkü fermantasyon sırasında açığa çıkan enterik metan hem küresel ısınmaya hem de yemin enerji kaybına neden olmasından dolayı hem çevreciler ve hem de hayvan beslemeciler tarafından arzu edilmemektedir. Metan gazı karbondioksit gazından sonra küresel ısınmaya neden olan ikinci gazdır. Toplam salınan metan miktarı az olmasına rağmen güneşten gelen ısıyı karbondioksite göre 23 kat daha fazla tutmaktadır.

Ruminant hayvanlar tarafından alınan sindirilebilir enerjinin %2-12'si enterik metan üretiminde harcanarak kaybedilmektedir (Getachew ve ark., 2005; Johnson ve Johnson, 1995). Çünkü metan üretimi ruminant hayvanlar için yemlerdeki sindirilebilir enerji kaybı anlamına gelmektedir (Cengiz ve Kamalak, 2020). SS fermantasyonunun metan içeriğini artırdığı, PAS ve PAS+SS ile yürütülen fermantasyonlarda azaldığı saptanmıştır. Katı faz fermantasyon sonucunda metan içeriğinin artması literatürdeki sonuçlarla uyum göstermektedir (Tuyen vd., 2013; Khonkhaen ve Cherdthong, 2020). GSKM ve GSD içeriği ile NDF, ADF ve ADL içeriği arasında negatif korelasyon olduğunu bildirilmiştir (Datsomor vd., 2022). Bu çalışmada da GSKM ve GSD içeriğinin NDF, ADF ve ADL içerikleri arasında negatif korelasyon görülmektedir. GSKM ve GSD ile NDF, ADF ve ADL arasındaki negatif korelasyon literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermektedir (van Kuijk vd., 2015; Özkan vd., 2020; Datsomor vd., 2022). Çayır otunun SS ve PAS ile fermantasyonunun TF üzerinde pozitif bir etkisi (SS fermantasyonunda TF 3.23'den 3.75'e, PAS fermantasyonunda ise 2.93'den 3.37'e yükselmiştir) olduğu saptanmıştır. Ruminant hayvanların beslenmesinde kullanılan yemlerin teorik TF'si 2.75 ile 4.41 arasında olduğu ve TF'nin MPSE'yi belirleyen temel faktörlerden olduğu bildirilmiştir (Blümmel ve Lebzien, 2001; Cengiz ve Kamalak, 2020; Özkan vd., 2020). Literatürde de belirtildiği üzere bu çalışmada da TF'nin artmasına paralel olarak MPSE ve MP içeriğinde artış tespit edilmiştir. TF ile MP ve MPSE arasındaki ilişki literatürdeki çalışma sonuçları ile de uyum içerisindedir (Cengiz ve Kamalak, 2020; Özkan vd., 2020).

Çayır otunun farklı inokulanlar kullanılarak yürütülen 30 günlük fermantasyon sonucunda KMS, KMT, NYD ve OMS içeriklerinde istatistiksel olarak önemli değişiklikler tespit edilmiştir (Çizelge 4) ($P < 0.001$).

Fermantasyonun KMS'ye etkisi incelendiğinde SS ile yürütülen fermantasyonda azaldığı, PAS ile fermantasyonunda 15. gün örneklerinde arttığı, PAS+SS ile yürütülen fermantasyonda ise fermantasyon süresince arttığı saptanmıştır. Çayır otunun 3 farklı fermantasyonu sonucunda KMT'nin SS fermantasyonunda azaldığı, PAS fermantasyonunda arttığı ve PAS+SS fermantasyonunda ise istatistiksel bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. NYD ise KMS ve KMT'ye bağlı olarak SS fermantasyonunda azalırken, PAS ve PAS+SS fermantasyonlarında arttığı saptanmıştır. NYD'ne benzer şekilde OMS'de SS fermantasyonunda azalırken, PAS ve PAS+SS fermantasyonlarında artmıştır.

Çizelge 4. Fermantasyonun çayır otu KMS, KMT, NYD ve OMS'ye etkisi.

Table 4. Effect of fermentation on KMS, KMT, NYD and OMS of meadow grass.

İnokulant	Gün	KMS (%)	KMT (%)	NYD	OMS (%)
SS	0	63.42 ^{bc}	1.94 ^c	95.49 ^e	52.95 ^e
	15	60.43 ^{cd}	1.83 ^d	85.72 ^f	48.77 ^f
	30	58.89 ^d	1.87 ^{cd}	85.56 ^f	48.84 ^f
PAS	0	64.80 ^{ab}	2.16 ^b	108.67 ^{bc}	57.44 ^b
	15	67.65 ^a	2.38 ^a	124.74 ^a	60.08 ^a
	30	64.18 ^{ab}	2.27 ^a	113.00 ^b	56.49 ^{bc}
PAS+SS	0	62.66 ^{bc}	2.07 ^b	100.45 ^{de}	55.07 ^d
	15	64.35 ^{ab}	2.09 ^b	104.20 ^{cd}	54.96 ^d
	30	65.59 ^{ab}	2.06 ^b	104.90 ^{cd}	55.69 ^{cd}
p değeri		0.000	0.000	0.000	0.000
SHO		0.526	0.034	2.366	0.699

^{abcdef} Aynı harflere sahip ve aynı sütun yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ($P < 0.05$), SHO: Standart hata ortalaması, KMS: kuru madde sindirimi; KMT: kuru madde tüketimi; NYD: nispi yem değeri; OMS: organik madde sindirimi.

Kaba yemlerin sindirimini etkileyen en önemli faktörlerden birisi lignin içeriği olup, çeşitli metotlar uygulanarak lignin içeriğinin azaltılması neticesinde kuru madde sindirimini artacağı bildirilmiştir (Fazaeli vd., 2007; Jafari vd., 2007; Sufyan vd., 2021). Benzer şekilde araştırmacıların çeşitli samanların fermantasyonu sonucunda ligninin azaldığını ve KMS'nin iyileştiğini belirtmişlerdir (Fazaeli vd., 2007; Jafari vd., 2007; Sufyan vd., 2021). Bu çalışmada da çayır otunun PAS ve PAS+SS ile fermantasyonlarının

15. gün örnekleri ile literatürdeki lignin ve KMS arasındaki ilişkiye benzer sonuçlar elde edilmiştir (Fazaeli vd., 2007; Jafari vd., 2007; Sufyan vd., 2021). Benzer şekilde 30. gün örneklerinde ligninin artması ile KMS'nin 15. gün örneklere göre azalması (PAS fermentasyonu) ve değişmediği (PAS+SS fermentasyonu) bu korelasyonu destekler nitelikte sonuçlardır. Ancak SS ile yürütülen fermentasyonda bu korelasyon bulunamamış ve literatürdeki çalışmalarla uyum göstermemektedir (Fazaeli vd., 2007; Jafari vd., 2007; Sufyan vd., 2021). Datsomor vd. (2022) yaptıkları çalışmada ise sadece ligninin azaltılması KMS'nin iyileştirilmesinde yeterli olamayacağını selüloz içeriğinin de sabit kalması veya azalması gerektiğini, artması durumunda KMS'nin düşeceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada da çayır otunun SS ile fermentasyonunda KMS'si yaklaşık %7 oranında düşmüştür. Bu düşüş fermentasyonda selüloz içeriğinin artmasından kaynaklanmaktadır. Çayır otunun SS fermentasyonunda KMS içeriğinde elde edilen sonuçlar Datsomor vd. (2022) çeltik samanı ile *P. chrysosporium* ile yürüttükleri fermentasyon çalışmasının sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Yemlerin yapısındaki NDF, ADF ve lignin içeriklerinin artması KMT, NYD ve OMS içeriklerinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Van Soest, 1994; Canbolat, 2012). Bu fermentasyon çalışmasında da hücre duvarı bileşenlerinin artması ile KMT, NYD ve OMS azalması (SS fermentasyonu), hücre duvarı bileşenlerinin azalması ile KMT, NYD ve OMS artması (PAS ve PAS+SS fermentasyonu) literatürdeki sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Van Soest, 1994; Canbolat, 2012).

SONUÇ

Çayır otunun 3 farklı katı faz fermentasyonu sonucunda kompozisyonunda önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Yürütülen fermentasyonlarda yapısal karbonhidratlarda ve % metanda azalma, net gaz üretimi, GSKM, TF, MP, MPSE ve GSD parametrelerinde artış olması neticesinde PAS ile yürütülen fermentasyon (özellikle de 15. günündeki örneklerde) yemlerin kompozisyonunun iyileştirilmesi açısından önerilebilir. Ancak PAS ile kaba yemler üzerinde yapılacak katı faz fermentasyon çalışmalarında katkı maddesi kullanılması ile fermentasyon etkinliğini artırılabilir düşünlümlenmektedir. Elde edilen bu sonuçların *in vivo* denemelerle hayvanlarda yem tüketimine ve sindirim derecesine olan etkisinin belirlenmesi fayda sağlayacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKISI

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Abera, F., Urge, M., & Animut, G. (2018). Feeding value of maize stover treated with urea or urea molasses for hararghe highland sheep. *The Open Agriculture Journal*, 12(1), 84-94. <https://doi.org/10.2174/1874331501812010084>.
- AOAC. (1990). *Official Method of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 15.edition. Washington, DC. USA.
- Atalay, A. I., Ozkan, C. O., Kaya, E., Kamalak, A., & Canbolat, O. (2018). Chemical composition, nutritive value and rumen methane potential of some legume tree pods. *Livestock Research for Rural Development*, 30(5).
- Atalay A. İ., & Kamalak, A. (2019). Olgunlaşma dönemlerinin sirken (*Chenopodium album*) otunun kimyasal kompozisyonuna, besleme değerine ve metan üretimine etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(3), 489-493. <https://doi.org/10.30910/turkjans.595363>.
- Bartkiene, E., Krungleviciute, V., Juodeikiene, G., Vidmantiene, D., & Maknickiene, Z. (2014). Solid state fermentation with lactic acid bacteria to improve the nutritional quality of lupin and soya bean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 1336-1342. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6827>.
- Beyzi, S. B., Ülger, İ., & Konca, Y. (2022). Chemical, fermentative, nutritive and anti-nutritive composition of common reed (*Phragmites australis*) plant and silage. *Waste Biomass Valorization*, <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01903-w>.
- Blümmel, M., Steingass, H., & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and N-15 incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77, 911-921. <https://doi.org/10.1079/BJN19970089>.
- Canbolat, Ö., (2012). Bazı buğdaygil kaba yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, sindirilebilir organik madde, nispi yem değeri ve metabolik enerji içeriklerinin karşılaştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(4), 571-577. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.5833>.

- Canbolat, Ö., (2022). Alkalilerle işlemenin mısır samanının besin madde bileşim, *in vitro* gaz üretim ve yem değeri üzerine etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 27, 61-67.
- Carrillo-Díaz, M. I., Miranda-Romero, L. A., Chávez-Aguilar, G., Zepeda-Batista, J. L., González-Reyes, M., García-Casillas, A. C., Tirado-González, D. N., & Tirado-Estrada, G. (2022). Improvement of ruminal neutral detergent fiber degradability by obtaining and using exogenous fibrolytic enzymes from white-rot fungi. *Animals*, 12(7), 843. <https://doi.org/10.3390/ani12070843>.
- Cengiz, T., & Kamalak, A. (2020). Farklı bölgelerde yetişen söğüt yapraklarının potansiyel besleme değerlerinin ve antimetanojenik özelliklerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(5), 1351-1358. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.679689>.
- Datsomor, O., Gou-qi, Z., & Miao, L. (2022). Effect of ligninolytic axenic and coculture white-rot fungi on rice straw chemical composition and *in vitro* fermentation characteristics. *Science Report*, 12, 1129. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05107-z>.
- Du, C., Nan, X., Wang, K., Zhao, Y., & Xiong, B. (2019). Evaluation of the digestibility of steam-exploded wheat straw by ruminal fermentation, sugar yield and microbial structure *in vitro*. *RSC Advances*, 9, 41775–41782. <https://doi.org/10.1039/c9ra08167d>.
- Fazaali, H. (2007). Nutritive value index of treated wheat straw with *Pleurotus* fungi. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 23, 169–180.
- Getachew G, Robinson PH, DePeters EJ, Taylor SJ, Gisi DD, Higginbotham GE, Riordan TJ2005. Methane production from commercial dairy rations estimated using an *in vitro* gas technique. *Feed Science and Technology*, 123-124:391-402.
- Goel, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2008). Effect of Sesbanias banand Carduus pycnocephalus leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) seed sand the irextract on partitioning of nutrients from roug hage-and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science Technology*, 147: 72-89.
- Jafari, M. A., Nikkhah, A., Sadeghi, A. A., & Chamani, M. (2007). The effect of *Pleurotus* spp. fungi on chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10,2460–2464.
- Johnson KA, Johnson DE 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73: 24832492.
- John, R. P., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A., (2006). Solid-state fermentation for l-lactic acid production from agro wastes using *Lactobacillus delbrueckii*. *Process Biochemistry*, 41(4), 759-763. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.09.013>.
- Joseph, I., Raj, R. P., & Bhatnagar, D. 2008. Effect of solid state fermentation on nutrient composition of selected feed ingredients. *Indian Journal of Fisheries*, 55(4), 327-332.
- Karabulut, A., & Canbolat, Ö. (2005). *Yem değerlendirme ve analiz yöntemleri*. Uludağ Üniversitesi Yayınları.
- Kaya, E., & Kamalak, A. (2019). Determination of chemical compositions and gas production values of some root and tuber crops from market wastes. *Black Sea Journal of Agriculture*, 2(4), 186-190.
- Ke, L., Wu, Q., & Zhang, D. (2011). Bioconversion of rape straw into a nutritionally enriched substrate by *Ganoderma lucidum* and yeast. *African Journal of Biotechnology*, 10(29), 5648-5653.
- Keskin, B., Temel, S., & Eren, B. (2021a). Bazı yem bezelyesi (*Pisum sativum* ssp. arvense L.) çeşitlerinin farklı ekim zamanlarındaki tohum verimi ve verim öğelerine olan etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(6), 1315-1326. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.870115>.
- Keskin, B., Temel, S., & Eren, B. (2021b). Farklı zamanlarda ekilen bazı yem bezelyesi (*Pisum sativum* ssp.arvense L.) çeşitlerinin tohum ve kesinin besin değerleri. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7(1): 96-105. <https://doi.org/10.24180/ijaws.870687>.
- Khonkhaeng, B., & Cherdthong, A. (2020). Improving nutritive value of purple field corn residue and rice straw by culturing with white-rot fungi. *Journal of Fungi*, 6, 69. <https://doi.org/10.3390/jof6020069>.
- Kutshik, J. R., Usman, A. M., & Ali-Dunkrah, U. (2016). Comparative study of protein enrichment of lignocellulose wastes using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) for animal feeds. *Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 2(7), 73-77. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29745.48485>.
- Lynch, J. P., O'Kiely, P., Murphy, R., & Doyle, M. (2014). Changes in chemical composition and digestibility of three maize stover components digested by white-rot fungi. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98, 731–738. <https://doi.org/10.1111/jpn.12131>.
- Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.

- Nasehi, M., Torbatinejad, N. M., Zerehdaran, S., & Safaie, A. R. (2017). Effect of solid-state fermentation by oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on nutritive value of some agro by-products. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 221-226. <https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1150850>.
- Olukomaiya, O. O., Fernando, W. C., Mereddy, R., Li, X., & Sultanbawa, Y. (2020a). Solid-state fermentation of canola meal with *Aspergillus sojae*, *Aspergillus ficuum* and their co-cultures: Effects on physicochemical, microbiological and functional properties. *LWT-Food Science and Technology*, 127, 109362. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109362>.
- Olukomaiya, O. O., Adiamo, O. Q., Fernando, W. C., Mereddy, R., Li, X., & Sultanbawa, Y. (2020b). Effect of solid-state fermentation on proximate composition, anti-nutritional factor, microbiological and functional properties of lupin flour. *Food Chemistry*, 315, 126238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126238>.
- Özkan, Ç. Ö., Cengiz, T., Yanık, M., Evlice, S., Selçuk, B., Ceren, B., & Kamalak, A., (2020). Ruminant hayvan beslemede kullanılan bazı kaba ve kesif yemlerin *in vitro* gaz üretiminin, metan üretiminin, sindirim derecesinin ve mikrobiyal protein üretiminin belirlenmesi. *Black Sea Journal of Agriculture*, 3(1), 56-60.
- Pandey A, 2003. Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 81-84.
- Ramli, M. N., Imura, Y., Takayama, K., & Nakanishi, Y. (2005). Bioconversion of sugarcane bagasse with Japanese koji by solid-state fermentation and its effects on nutritive value and preference in goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(9), 1279-1284.
- Rohweder, D. A., Barnes, R. F., & Jorgensen, N. (1978). Proposed hay grading standards based on laboratory analyses for evaluating quality. *Journal of Animal Science*, 47(3), 747-759. <https://doi.org/10.2527/jas1978.473747x>.
- Sarnklong, C., Cone, J. W., Pellikaan, W., & Hendriks, H. (2010). Utilization of rice straw and different treatments to improve its feed value for ruminants: A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(5), 680 - 692. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.80619>.
- Shrivastava, B., Jain, K. K., Kalra, A., & Kuhad, R. C. (2014). Bioprocessing of wheat straw into nutritionally rich and digested cattle feed. *Science Report*, 4,1-9. <https://doi.org/10.1038/srep06360>.
- Sufyan, A., Ahmad, N., Shahzad, F., Embaby, M. G., AbuGhazaleh, A., & Khan, N. A. (2022). Improving the nutritional value and digestibility of wheat straw, rice straw, and corn cob through solid state fermentation using different *Pleurotus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(6), 2445-2453. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11584>.
- Terefe, Z. K., Omwam-Ba, M. N., & Nkudo, J. M. (2021). Effect of solid state fermentation on proximate composition, antinutritional factors and *in vitro* protein digestibility of maize flour. *Food Science and Nutrition*, 9(11), 6343-6352. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2599>.
- Tuyen, D. V., Phuong, H. N., Cone, J. W., Baars, J. J. P., Sonnenberg, A. S. M., & Hendriks, W. H. (2013). Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and *in vitro* rumen fermentation and methane production. *Bioresource Technology*, 129, 256-263. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.128>.
- Uvere, P. O., Onyekwere, E. U., & Ngoddy, P. O. (2010). Production of maize-bambara groundnut complementary foods fortified pre-fermentation with processed foods rich in calcium, iron, zinc and provitamin A. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(4), 566-573. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3846>.
- Van Kuijk, S. J. A., Sonnenberg, A. S. M., Baars, J. J. P., Hendriks, W. H., & Cone, J. W. (2015). Fungal treated lignocellulosic biomass as ruminant feed ingredient: A review. *Biotechnology Advances*, 33, 191-202. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.014>.
- Van Kuijk, S. J. A., del Río, J. C., Rencoret, J., Gutierrez, A., Sonnenberg, A. S. M., Baars, J. J. P., Hendriks, W. H., & Cone, J. W. (2016). Selective ligninolysis of wheat straw and wood chips by the white-rot fungus *Lentinula edodes* and its influence on *in vitro* rumen degradability. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7, 55. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0110-z>.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2. ed. Ithaca, N.Y., Cornell University Press.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., & Schlink, A.C. (2010). *In vitro* screening of plant resources for extranutritional attributes in ruminants: Nuclear and related methodologies. Springer Science + Business Media B.V. Springer, Dordrecht.
- Xie, P. J., Huang, L. X., Zhang, C. H., & Zhang, Y. L. (2016). Nutrient assessment of olive leaf residues processed by solidstate fermentation as an innovative feedstuff additive. *Journal of Applied Microbiology*, 121(1), 28-40. <https://doi.org/10.1111/jam.13131>.
- Yasar, S., & Tosun, R. (2018). Predicting chemical, enzymatic and nutritional properties of fermented barley (*Hordeum vulgare* L.) by second derivate spectra analysis from attenuated total reflectance-Fourier transform infrared data and its nutritional value in Japanese quails. *Archives of Animal Nutrition*, 72(5), 407-423. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2018.1500242>.

- Yasar, S., & Tosun, R. (2020). Improving nutritional qualities of tomato pomace by *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* fermentation. *Journal Of Agriculture and Nature*, 23(2), 527-535. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogan.vi.629347>.
- You, Z., Zhang, S., Kim, H., Chiang, P. C., Sun, Y., Guo, Z., & Xu, H. (2019). Effects of corn stover pretreated with NaOH and CaO on anaerobic co-digestion of swine manure and corn stover. *Applied Sciences*, 9(1), 123. <https://doi.org/10.3390/app9010123>.