

Cilt / Volume: 14, Sayı / Issue: 2

Haziran / June, 2024

ISSN 2146-0574

E-ISSN 2536-4618

FBED / JIST

Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal

**İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ DERGİSİ**

**JOURNAL OF THE INSTITUTE
OF SCIENCE AND
TECHNOLOGY**



FBED / JIST

IĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

Journal of the Institute
of Science and Technology

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



Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi
Kısaltılmış Başlık: Iğdır Üniv. Fen Bil. Enst. Der.

Journal of the Institute of Science and Technology
Abbreviated Title: J. Inst. Sci. and Tech.

Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal

Basılı ISSN: 2146-0574

Elektronik ISSN: 2536-4618

Veri Tabanı / Indexed by

TR Dizin, EBSCO, ROAD, Open Access Library (oalib), COSMOS IF, Sobiad, Google Scholar, Türkiye Atıf Dizini, International Institute of Organized Researches, Sindex, CrossRef, Scientific Indexing Services (SIS), Eurasian Scientific Journal Index, CiteFactor, International Scientific Indexing, CAB Abstract, Online Journal Platform and Indexing Association (OJOP)

Sahibi / Owner

Doç. Dr. Ahmet TAN / Assoc. Dr. Ahmet TAN
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü / Graduate Education Institute Director

Baş Editör / Editor in Chief

Doç. Dr. Fikret TÜRKAN / Assoc. Prof. Dr. Fikret TÜRKAN

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Doç. Dr. Adem KOÇYİĞİT / Assoc. Prof. Dr. Adem KOÇYİĞİT
Doç. Dr. Ersin GÜLSOY / Assoc. Prof. Dr. Ersin GÜLSOY
Doç. Dr. Mehmet Harbi ÇALIMLI / Assoc. Prof. Dr. Mehmet Harbi ÇALIMLI
Dr. Öğr. Üyesi Sevtap TIRINK / Assist. Prof. Dr. Sevtap TIRINK

Danışma Kurulu / Advisory Board

Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ, *Physics*, University of Ottawa, Canada
Prof. Dr. Kağan KÖKTEN, *Field Crop*, Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Agricultural, Sivas, Türkiye
Prof. Dr. Abdulmecit TÜRÜT, *Physics*, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Muhammad SARWAR, *Animal Science*, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan
Prof. Dr. Vaqif ABBASOV, *Chemistry*, Neft Kimya Prosesleri Institutu, Azerbaijan
Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR, *Biochemistry*, Anadolu Üniversitesi, Eskisehir, Türkiye
Prof. Dr. Özkan AKSAKAL, *Botanical*, Ataturk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye
Prof. Dr. Salih DOĞAN, *Zoology*, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Erzincan, Türkiye
Doç. Dr. Mehmet POLAT, *Horticulture*, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Isparta, Türkiye
Dr. Snezana ANDJELKOVIC, *Forage Crops*, Institute Za Krmno Bilje, Krusevac, Republic of Serbia
Dr. Öğr. Üyesi Asim FARAZ, *Zootehni*, Bahauddin Zakariya University Multan, Pakistan

Yayın ve Mizanpaj Editörleri / Editorial Reviews and Layouts

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe KARACALI TUNÇ
Öğr. Gör. Dr. Adem AKDAĞ
Öğr. Gör. Rabia ACEMİOĞLU
Öğr. Gör. Cansu ÇOLAK
Öğr. Gör. Binnaz BOZKURT

Tasarım / Design

Dr. Öğr. Üyesi Sevtap TIRINK / Assist. Prof. Dr. Sevtap TIRINK

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

Mail address: fbed@igdir.edu.tr

ULUSAL EDİTÖRLER KURULU
NATIONAL EDITORIAL BOARD

| | |
|---|---|
| Prof. Dr. Ferhad MURADOĞLU, <i>Horticulture</i> Abant İzzet Baysal University, Bolu, Türkiye | Doç. Dr. Sinan KUL, <i>Environmental Engineering</i> Bayburt University, Bayburt, Türkiye |
| Doç. Dr. Ersin GÜLSOY, <i>Horticulture</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Sevtap TIRINK, <i>Environmental Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Mete YAĞANOĞLU, <i>Computer Engineering</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Doç. Dr. Adem KOÇYIĞIT, <i>Electrical Electronic Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Gültekin IŞIK, <i>Computer Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Kenan ÇİÇEK, <i>Electrical Electronic Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Ferhat BOZKURT, <i>Computer Engineering</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Agah Oktay ERTAY, <i>Electrical Electronic Engineering</i> Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Fatma Özge ÖZKÖK, <i>Computer Engineering</i> Erciyes University, Kayseri, Türkiye | Doç. Dr. Muhammed Said BOYBAY, <i>Electrical Electronic Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi İshak PACAL, <i>Computer Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Murat KARAKILIÇ, <i>Electrical Electronic Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Prof. Dr. Ahmet ULUDAĞ, <i>Plant Protection</i> Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Türkiye | Doç. Dr. Seda AKTÜRK, <i>Industrial Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Prof. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK, <i>Plant Protection</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Hamid YILMAZ, <i>Industrial Engineering</i> Bursa Technical University, Bayburt, Türkiye |
| Prof. Dr. Fatih DADAŞOĞLU, <i>Plant Protection</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Doç. Dr. İkrım ORAK, <i>Physics</i> Bingöl University, Bingöl, Türkiye |
| Doç. Dr. Alime BAYINDIR EROL, <i>Plant Protection</i> Pamukkale University, Denizli, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Osman AĞAR, <i>Physics</i> Karamanoğlu Mehmetbey University, Karaman, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Tuba GENÇ KESİMCİ, <i>Plant Protection</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Abdulkerim KARABULUT, <i>Physics</i> Erzurum Technical University, Erzurum, Türkiye |
| Doç. Dr. Ramazan GÜRBÜZ, <i>Plant Protection</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Harun GÜNEY, <i>Physics</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Prof. Dr. Ümit İNCEKARA, <i>Biology</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT, <i>Food Engineering</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Prof. Dr. Hasan AKAN, <i>Biology</i> Harran University, Şanlıurfa, Türkiye | Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN, <i>Food Engineering</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Doç. Dr. Tülin GÜVEN GÖKMEN, <i>Biology</i> Çukurova University, Adana, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELEBİ, <i>Food Engineering</i> Uşak University, Uşak, Türkiye |
| Prof. Dr. Medeni AYKUT, <i>Biology</i> Dicle University, Diyarbakır, Türkiye | Doç. Dr. Mubin KOYUNCU, <i>Food Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Prof. Dr. Erhan ZEYTUN, <i>Biology</i> Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Melek ZOR, <i>Food Engineering</i> Ağrı İbrahim Çeçen University, Ağrı, Türkiye |
| Doç. Dr. Arzu ÜNAL, <i>Biology</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Hacer AKPOLAT, <i>Food Engineering</i> Bayburt University, Bayburt, Türkiye |
| Doç. Dr. Emel DIRAZ YILDIRIM, <i>Biology</i> Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, Türkiye | Doç. Dr. Menekşe BULUT, <i>Food Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Ahmet POLAT, <i>Biology</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Doç. Dr. Muhammed Yasin ÇODUR, <i>Civil Engineering</i> Erzurum Technical University, Erzurum, Türkiye |
| Prof. Dr. Hakan KİBAR, <i>Biosystem Engineering</i> Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu, Türkiye | Prof. Dr. Rıza POLAT, <i>Civil Engineering</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Prof. Dr. Sefa ALTİKAT, <i>Biosystem Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Alperen ÖZDEMİR, <i>Civil Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK, <i>Environmental Engineering</i> Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye | Prof. Dr. Mehmet GÜLCAN, <i>Chemistry</i> Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye |
| Prof. Dr. Alper NUHOĞLU, <i>Environmental Engineering</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN, <i>Chemistry</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Prof. Dr. Hülya ÖZKOÇ, <i>Environmental Engineering</i> Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye | Prof. Dr. Fatma Zerrin SALTAN, <i>Chemistry</i> Anadolu University, Eskişehir, Türkiye |
| Doç. Dr. Züleyha REÇBER, <i>Environmental Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Prof. Dr. Ercan BURSAL, <i>Chemistry</i> Muş Alparslan University, Muş, Türkiye |

| | |
|---|---|
| Prof. Dr. Mehmet Salih AĞIRTAŞ, <i>Chemistry</i> Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye | Prof. Dr. Hasan KOTAN, <i>Materials and Metallurgical Engineering</i> Bursa Technical University, Bursa, Türkiye |
| Doç. Dr. Fikret TÜRKAN, <i>Chemistry</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Prof. Dr. Mehmet Hakkı ALMA, <i>Forestry Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Mesut IŞIK, <i>Chemistry</i> Bilecik Şeyh Edebali University, Bilecik, Türkiye | Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL, <i>Molecular Biology and Genetic</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Doç. Dr. Haydar KILIÇ, <i>Chemistry</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye | Doç. Dr. Can Ali AĞCA, <i>Molecular Biology and Genetic</i> Bingöl University, Bingöl, Türkiye |
| Doç. Dr. Adnan ÇETİN, <i>Chemistry</i> Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Kaan HÜRKAN, <i>Molecular Biology and Genetic</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Hasan SAYĞILI, <i>Chemistry</i> Mus Alparslan University, Mus, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN, <i>Molecular Biology and Genetic</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN, <i>Chemistry</i> Bingöl University, Bingöl, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Ahmet TÜLEK, <i>Molecular Biology and Genetic</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Velid UNSAL, <i>Chemistry</i> Mardin Artuklu University, Mardin, Türkiye | Prof. Dr. Mehmet Akif IRMAK, <i>Landscape Architecture</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Neslihan BALCI, <i>Chemistry</i> Gümüşhane University, Gümüşhane, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Meryem Bihter BİNGÜL BULUT, <i>Landscape Architecture</i> Kırkkale University, Kırkkale, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Servet AŞKIN, <i>Chemistry</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. İlknur MERİÇ TURGUT, <i>Fisheries</i> Ankara University, Ankara, Türkiye |
| Doç. Dr. Uğur GÜLLER, <i>Chemistry</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Alihsan ŞEKERTEKİN, <i>Map Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Zeynep Şilan TURHAN, <i>Chemistry</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Yakup Erdal ERTÜRK, <i>Agricultural Economy</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Mustafa Zahritin KAZANCIÖĞLU, <i>Chemistry</i> Kilis 7 Aralık University, Kilis, Türkiye | Doç. Dr. Bengü EVEREST, <i>Agricultural Economy</i> Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Adem RÜZGAR, <i>Chemistry</i> Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Tuba ALBAYRAK, <i>Agricultural Economy</i> Bozok University, Yozgat, Türkiye |
| Doç. Dr. Gülşah SAYDAN KANBEROĞLU, <i>Chemistry</i> Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Selime CANAN, <i>Agricultural Economy</i> Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye |
| Doç. Dr. Mehmet Harbi ÇALIMLI, <i>Chemistry</i> İstanbul University, İstanbul, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Kasım ŞAHİN, <i>Farming Economy</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Selcan KARAKUŞ, <i>Chemistry</i> İstanbul University, İstanbul, Türkiye | Prof. Dr. Bilal KESKİN, <i>Field Crops</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Prof. Dr. Alime ÇITAK, <i>Chemistry Engineering</i> Eskişehir Osmangazi University, Eskişehir, Türkiye | Prof. Dr. Süleyman TEMEL, <i>Field Crops</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Selçuk EKİCİ, <i>Mechanical Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Prof. Dr. Tamer ERYİĞİT, <i>Field Crops</i> Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye |
| Prof. Dr. Mahir UZUN, <i>Mechanical Engineering</i> İnönü University, Malatya, Türkiye | Dr. Öğr. Üyesi Esin DADAŞOĞLU, <i>Field Crops</i> Atatürk University, Erzurum, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Mustafa HAMAMCI, <i>Mechanical Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Prof. Dr. Ali Rıza DEMİRKIRAN, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i> Bingöl University, Bingöl, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Raci AYDIN, <i>Mechanical Engineering</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Prof. Dr. Adem GÜNEŞ, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i> Erciyes University, Kayseri, Türkiye |
| Prof. Dr. Serpil HALICI, <i>Mathematics</i> Sakarya University, Sakarya, Türkiye | Doç. Dr. Serdar SARI, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Prof. Dr. Engin ÖZKAN, <i>Mathematics</i> Marmara University, İstanbul, Türkiye | Doç. Dr. Mücahit KARAOĞLU, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Aynur ŞAHİN, <i>Mathematics</i> Sakarya University, Sakarya, Türkiye | Doç. Dr. Ali İhsan ATALAY, <i>Animal Science</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |
| Doç. Dr. Alkan ÖZKAN, <i>Mathematics</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. İsa YILMAZ, <i>Animal Science</i> Muş Alparslan University, Muş, Türkiye |
| Doç. Dr. Lokman BİLEN, <i>Mathematics</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye | Doç. Dr. Ali Vaiz GARİPOĞLU, <i>Animal Science</i> Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye |
| Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KURU, <i>Materials and Metallurgical Engineering</i> Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye | Doç. Dr. Cem TIRINK, <i>Animal Science</i> Iğdır University, Iğdır, Türkiye |

Dr. Ahmet Burçin BATIBAY, *Materials and Metallurgical Engineering*
Necmettin Erbakan University, Konya, Türkiye

ULUSLARARASI EDİTÖRLER KURULU
INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Muhammad HANIF, *Mathematic*
Lahore University, Lahore, Pakistan

Prof. Dr. Lenka KOURIMSKA, *Food and Nutrition*
Czech Uni. of Life Sciences Prague, Suchdol, Czech Republic

Prof. Dr. Çetin Kaya KOÇ, *Computer Engineering*
University of California, Santa Barbara

Prof. Dr. Tan YANWEN, *Economics*
South China Agricultural University, Guangzhou, China

Prof. Dr. Muhammad SARWAR KHAN, *Agri. Biotechnology*
University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

Prof. Dr. Zafar IQBAL, *Veterinary Science*
University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

Prof. Dr. Abdul WAHID, *Department of Botany*
University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

Assist. Prof. Dr. Christina BENEKI, *Dep. of Bus. Admin.*
Tech. Educ. Inst. of Ionian Islands, Cephalonia, Greece

Prof. Dr. Khalid JAVED, *Dep. of Livestock Prod.*
University of Vet. & Animal Sciences, Lahore, Pakistan

Dr. Reza ABDİ, *Physics*
University of Bonab, İran

Prof. Dr. Guang Jie ZHAO, *Forestry*
Beijing Forestry University, China

Dr. Mahdı HOSSEINI, *Civil Engineering*
Nanjing Forestry University, China

Prof. Dr. Vaqif ABBASOV, *Chemistry*
Neft Kimya Prosesleri Institutu, Azerbaycan

Dr. Snezana ANDJELKOVIC, *Forage Crops*
Institute for Forage Crops (IFC), Krusevac, Republic of Serbia

Prof. Dr. Afsun SUJAYEV, *Chemistry*
Institute of Additive Chemistry of the ANAS, Azerbaycan

Dr. Abdul WAHEED, *Animal Science*
Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan

Prof. Dr. Emanuele BOSELLI, *Food Science and Technology*
Free University of Bozen, Bolzano, Italy

Dr. Ferhat ABBAS, *Vet- Animal Science, CASVAB*
University of Balochistan, Balochistan, Pakistan

Dr. Naveen KUMAR, *Horticulture*
University of Florida, Florida, USA

Dr. Öğr. Üyesi Asim FARAZ, *Zootekni*
Bahauddin Zakariya University Multan, Pakistan

Dr. Mohamad Mazen HAMOUD-AGHA, *Microbiology*
Institut Polytechnique UniLaSalle, Beauvais, France

Assoc. Prof. Dr. Lilong XIONG, *Chemistry*
Xi'an Jiaotong University, Beilin, Xi'an, Shaanxi, China

Dr. Neciah DORH, *Electrical Engineering*
University of Bristol, Bristol, United Kingdom

DİL EDİTÖRLERİ
LANGUAGE CONSULTANTS

İSTATİSTİK EDİTÖRLERİ
STATISTICS CONSULTANTS

Dr. Öğr. Üyesi Didem ERDEL
İğdır University, İğdır, Türkiye

Doç. Dr. Cem TIRINK
İğdır University İğdır, Türkiye

Öğr. Gör. Barış YILDIZ
İğdır University, İğdır, Türkiye

Doç. Dr. Samet Hasan ABACI
Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye

Öğr. Gör. Gökhan YIDIRIM
İğdır University, İğdır, Türkiye

Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (FBED)
YAYIN İLKELERİ

1. FBED, Uluslararası hakemli bir dergi olup yılda dört kez yayınlanır. Dergimiz herhangi bir ücret talep etmemektedir. Makalelerin tümüne açık erişimle ulaşılabilir ve tam metin olarak indirilebilir.
2. Dergiye gönderilebilecek makale konuları Bahçe bitkileri, Bilgisayar mühendisliği, Bitki koruma, Biyoloji, Biyosistem mühendisliği, Çevre mühendisliği, Elektrik elektronik mühendisliği, Endüstri mühendisliği, Fizik, Gıda mühendisliği, İnşaat mühendisliği, Kimya, Makina mühendisliği, Matematik, Moleküler biyoloji ve genetik, Orman mühendisliği, Peyzaj mimarlığı, Su ürünleri, Tarım ekonomisi, Tarla bitkileri, Toprak bilimi ve bitki besleme ve Zootečni'dir. Dergide orijinal araştırma makalesi, derleme, teknik not yayımlanabilir.
3. Tüm yazılar iki profesyonel hakem tarafından değerlendirilir, Editör ve Yayın Kurulu tarafından incelenir.
4. FBED Türkçe ve İngilizce dillerinde yazılmış orijinal araştırma makalesi, teknik not ve derleme (toplam yayınların %20) yayınlamaktadır.
5. Yayınlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur.
6. Dergiye yayınlanmak üzere gönderilen eserlerle birlikte Telif Hakkı Devir Sözleşmesi de tüm yazarlarca (farklı adreslerde bulunan yazarlar forma ait tüm bilgileri doldurarak ayrıca imzalamak suretiyle gönderebilirler) imzalanarak gönderilmelidir.
7. Eserlerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir.
8. Aynı sayıda ilk isim olarak bir yazarın en çok iki makalesi basılır.
9. Eserler bilim etiği ilkelerine uygun olarak hazırlanmalı, gerekliyse Etik Kurul Raporu'nun bir kopyası eklenmelidir.
10. Herhangi bir sorunuz için lütfen fbed@igdir.edu.tr adresine başvurun.

Journal of the Institute of Science and Technology (JIST)
PUBLISHING POLICIES

1. JIST is International Peer Reviewed Journal and published four times a year. Our journal does not charge any fees. All of the articles are accessible by open access and can be downloaded in full text.
2. The articles that can be sent to the journal are Horticulture, Computer engineering, Plant protection, Biology, Biosystem engineering, Environment engineering, Electrical-electronic engineering, Industrial engineering, Physics, Food engineering, Civil engineering, Chemistry, Mechanical engineering, Mathematics, Molecular biology and genetic, Forestry engineering, Landscape architecture, Fisheries, Agricultural economy, Field crops, soil science and plant nutrition and animal science.
3. All the manuscripts submitted to our journal are peer reviewed by two professional referees, Editor in Chief, and Editorial Board.
4. JIST intends to publish original research papers, technical notes, and reviews (20% of total papers) written in Turkish and English languages.
5. Manuscripts and communications are accepted on the understanding that these have not been published nor are being considered for publication elsewhere.
6. All the authors should submit their manuscript with transfer form of copyright for potential publication. The transfer form of Copyright should be signed by all authors.
7. All the authors will be responsible contextually for contents of their manuscripts.
8. Only two manuscripts of each author as first author can be published in same issue of JIST.
9. Manuscripts should be prepared in accordance with scientific ethic rules. When required, ethical committee reports with the related documents should be submitted to JIST.
10. Please contact for any question to fbed@igdir.edu.tr

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Bilgisayar Mühendisliği / Computer Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Comparing The Performance of Machine Learning Algorithms in Predicting Energy Consumption of Electric Vehicles
Elektrikli Araçların Enerji Tüketimini Tahmin Etmede Makine Öğrenimi Algoritmalarının Performanslarının Karşılaştırılması
Emrah ASLAN

518

Araştırma Makalesi / Research Article

Kenar Hesaplama Tabanlı, Mikrodenetleyici Entegreli, Çok Amaçlı ve Düşük Maliyetli Modül Geliştirilmesi: Bakteriyel Koloni Sayımı Örneği
Development of an Edge-Computing-Based, Microcontroller-Integrated, Multi-Purpose, and Low-Cost Module: A Bacterial Colony Counting Case Study
Yeliz DURGUN, Mahmut DURGUN

531

Araştırma Makalesi / Research Article

Meta-Sezgisel Tabanlı Clustal-SA Algoritmasını Kullanarak DNA Sekanslarında Çoklu Dizi Hizalama
Multiple Sequence Alignment for DNA Sequences by Using Meta-Heuristic Based Clustal-SA Algorithm
Hatice ERDİRİK, Abdullah Ammar KARCIÖĞLU, Muhammed Bahattin TANYOLAÇ, Hasan BULUT

544

Bitki Koruma / Plant Protection

Araştırma Makalesi / Research Article

Determination of Weed Seeds in Lentil Product in Diyarbakır Province
Diyarbakır İlinde Mercimek Ürününe Karışan Yabancı Ot Tohumlarının Belirlenmesi
Berat URUÇ, Olcay BOZDOĞAN

563

Biyoloji / Biology

Araştırma Makalesi / Research Article

Comparison of Different DNA Isolation Protocols in Old and New Insect Samples
Eski ve Yeni Böcek Örneklerinde Farklı DNA İzolasyon Protokollerinin Karşılaştırılması
Muhammed TATAR, Aslihan Esra BİLDİRİCİ, Fatih ÖLMEZ, Zemran Mustafa, Göksel TOZLU

594

Araştırma Makalesi / Research Article

Phenolic Acids Modulating Epigenetic Mechanisms in HepG2 Human Hepatoma Cells
Dogukan MUTLU, Nevin KAYA DIKICI, Naime Nur BOZBEYOĞLU KART, Sevki ARSLAN

604

Araştırma Makalesi / Research Article

Palynological Investigation of Some *Astragalus* L. Species Distributed in Şanlıurfa
Şanlıurfa'da Yayılış Gösteren Bazı *Astragalus* L. Türlerinin Palinolojik Olarak İncelenmesi
Fatma ALTIN, Hasan AKAN, Talip ÇETER

616

Araştırma Makalesi / Research Article

Protective Role of Naringenin on Oxidative Stress Caused by Fenamiphos in Rat Blood and Spleen Tissue
Fenamifos'un Sıçan Kan ve Dalak Dokusunda Sebep Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Naringenin'in Koruyucu Rolü
Hatice KARABODUK, Çağlar ADIGUZEL, Fatma GÖKÇE APAYDIN, Suna KALENDER, Meltem UZUNHİSARCIKLI, Yusuf KALENDER

625

Araştırma Makalesi / Research Article

Abnormalities in Some Odonata Larvae Which Do Not Hinder Development
Ali SALUR, Ali MİROĞLU

636

Araştırma Makalesi / Research Article

Bibliometric Analysis of Multiple Sclerosis Studies in Pharmacology Journals
Mazhar ÖZKAN, Tuğba Nurcan YÜKSEL, Fatih TOZOĞLU

642

Derleme/ Review Article

Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Virus: From Genomic Insights to Control Strategies
Yonca KESKEK TURK, Fatma Necmiye KACI

650

Biyosistem Mühendisliği / Biosystem Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Performance Evaluation of Pamukçu and Aslihantepecik Plain Irrigation
Pamukçu ve Aslihantepecik Ovası Sulamasında Sulama Performansının Değerlendirilmesi
Elif BALABAN, Burak Nazmi CANDOĞAN

668

Çevre Mühendisliği / Environmental Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Türkiye'nin Güneydoğu Bölgesinde Kuraklık Şiddetinin Trend Analizi
Trend Analysis of Drought Severity in Southeast Region of Türkiye
İslam YAŞA, Turgay PARTAL

681

Elektrik Elektronik Mühendisliği / Electrical Electronic Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Modeling the Thermal Annealing Process of Schottky Barrier Diodes with ANFIS
Schottky Bariyer Diyotlarında Termal Tavlama İşleminin ANFIS ile Modellenmesi
Hülya DOĞAN

696

Araştırma Makalesi / Research Article

Mitigation of Power Unbalance in Electrical Distribution Transformers with Solar Photovoltaic Panels
Elektrik Dağıtım Transformatörlerinde Güç Dengesizliğinin Fotovoltaik Solar Paneller ile Azaltılması
Umut BOZAVLI, Mehmet YILMAZ, Muhammed Fatih ÇORAPSIZ

706

Fizik / Physics

Araştırma Makalesi / Research Article

A Detailed Study of Solvent-Ligand Interactions and in Silico Biological Activity Predictions on Hydroxychloroquine
Mustafa Tuğfan BİLKAN

718

Gıda Mühendisliği / Food Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Effect of Red Cabbage Extract on Characteristic Properties of Chitosan-Starch Films
Kırmızı Lahana Ekstraktının Kitosan-Nişasta Filmlerin Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi
Meral YILDIRIM-YALÇIN

732

İnşaat Mühendisliği / Civil Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Utilisation of Machine Learning Methods to Increase Efficiency in Public Transport Systems
Toplu Ulaşım Sistemlerinde Verimliliğin Artırılması Amacıyla Makine Öğrenmesi Yöntemlerinden Yararlanılması
Emre KUŞKAPAN

743

Araştırma Makalesi / Research Article

Experimental and Analytical Investigation of Moment-Carrying Capacities of Reinforced Concrete Frame Systems Corroded by Accelerated Corrosion Method
Hızlandırılmış Korozyon Yöntemiyle Paslandırılan Betonarme Çerçeve Sistemlerinin Moment-Taşıma Kapasitelerinin Deneysel ve Analitik İncelenmesi
Ahmet İhsan TURAN, Yaşar AYZA, Hakan YALÇINER, Atilla KUMBASAROĞLU, Alper ÇELİK

755

Araştırma Makalesi / Research Article

An Automatic Parameter Calibration Method for the TUW Model in Streamflow Modeling
Muhammet YILMAZ

773

Kimya/ Chemistry

Araştırma Makalesi / Research Article

Investigation of *In Vitro* Effects of Some Pesticides on Carbonic Anhydrase (I-II) Isoenzymes Purified by Affinity Chromatography Method
Afinite Kromatografisi Yöntemi ile Saflaştırılan Karbonik Anhidraz (I-II) İzoenzimleri Üzerine Bazı Pestisitlerin *In Vitro* Etkilerinin Araştırılması
Nahit GENÇER, Aybike BALTAÇI, Kübra ÇIKRIKCI

783

Araştırma Makalesi / Research Article

Exploring the Impacts of *Angelica purpurascens* Extracts on Anticholinergic, Antidiabetic, Antibacterial Potential, and Antioxidant Capacity
Meryem TOPAL, Fevzi TOPAL, Fırat YILMAZ

790

Araştırma Makalesi / Research Article

Ev Yapımı Alkollü İçeceklerde Etanolün Kalitatif Tespitinde Raman Spektroskopisi ve Temel Bileşenler Analizi
Raman Spectroscopy and Principal Components Analysis in The Qualitative Detection of Ethanol in Homemade Alcoholic Beverages
Güneş AÇIKGÖZ

805

Araştırma Makalesi / Research Article

Piperidin Halkası İçeren Bazı Moleküllerin Glutasyon S-Transferaz ve Kolinesteraz Enzimleri Üzerine Etkilerinin Teorik ve Deneysel Olarak İncelenmesi
Theoretical and Experimental Investigation of the Effects of Some Molecules Containing Piperidine Ring on Glutathione S-Transferase and Cholinesterase Enzymes
Fikret TÜRKAN, Kübra AKİL

812

Araştırma Makalesi / Research Article

Molecular Docking and DFT Analysis of Thiazolidinone-Bis Schiff Base for anti-Cancer and anti-Urease Activity
Anti-Kanser ve Anti-Üreaz Aktivitesi için Tiazolidinon-Bis Schiff Bazının Moleküler Yerleştirme ve DFT Analizi
Kenan GÖREN, Mehmet BAĞLAN, Ümit YILDIKO, Veysel TAHİROĞLU

822

Makina Mühendisliği / Mechanical Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Free Vibration Analysis of Syntactic Foam Curved Beams by Differential Quadrature Method
Sentetik Köpük Eğri Kirişlerin Diferansiyel Quadrature Metodu ile Serbest Titreşim Analizi
Sinan MARAŞ

835

Derleme / Review Article

Organic Rankine Cycle (ORC) Systems: A fundamental Overview of Small-scale Applications Fuelled by Low-grade Heat Sources
Celal TİLTAY

848

Matematik / Mathematics

Araştırma Makalesi / Research Article

Computation of Gutman index of Some Transformation Graphs
Bazı Transformasyon Çizgelerin Gutman İndeksinin Hesaplanması
Merve ÇAKAL, Gökşen BACAK TURAN

865

Moleküler Biyoloji ve Genetik/Molecular Biology and Genetic

Araştırma Makalesi / Research Article

Transcriptional Regulation of Circadian Rhythm System for Developmental Stage in *Cucumis melo* L. A bioinformatic study v2
Tuğba GURKOK TAN, Ebru DERELLİ TUFEKÇİ

879

Araştırma Makalesi / Research Article

Assessment of Anti-Nuclear Antibodies and Anti-Extractable Nuclear Antigen Levels in Breast Cancer Patients
Elif Sibel ASLAN, Asmaa ABUAISHA, Selman EMİROĞLU, Mehmet Ali DOĞAN

888

Araştırma Makalesi / Research Article

Dill (*Anethum graveolens*) Induces Cell Death in a Human Ovarian Cancer Cell Line, A2780, without Causing DNA Damage
Dereotot (*Anethum graveolens*) İnsan Yumurtalık Kanseri Hücre Hattı A2780 Üzerinde DNA Hasarına Neden Olmadan Hücre Ölümünü İndükler
Büşra EKİN, Sevilay GÜNAY, Yavuz ERDEN

894

Tarla Bitkileri / Field Crops

Araştırma Makalesi / Research Article

Effect of Some Priming on Germination and Enzyme Activity in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Salinity Stress Conditions
Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) Bazı Ön Uygulamaların Tuzluluk Stresi Koşullarında Çimlenme ve Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi
Ferzat TURAN, Ebru YAĞCI

901

Araştırma Makalesi / Research Article

Effects of Different Row Spacing on Yield and Some Yield Components of Some Quinoa Varieties
Bazı Kinoa Çeşitlerinin Verim ve Bazı Verim Öğelerine Farklı Sıra Aralığının Etkileri
Bilal KESKİN, Abdurrahman DUMAN

913

Araştırma Makalesi / Research Article

The Effect of Sowing Times on Yield and Yield Characteristics of Different Safflower Varieties
Farklı Ekim Zamanlarının Aspir Bitkisinde Verim ve Verim Karakterleri Üzerine Etkileri
Erkan BOYDAK, Muhammed Said YOLCU, Filiz EKİN

922

Zootekni / Animal Science

Araştırma Makalesi / Research Article

Investigation of Animal Welfare and Some Herd Management Practices in Farms Reared Awassi Sheep in Gaziantep Province
Gaziantep İlinde İvesi Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Bazı Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi
Ali KAYGISIZ, Osman TÜRKMEN

931

Atf İçin: Aslan, E. (2024). Elektrikli Araçların Enerji Tüketimini Tahmin Etmede Makine Öğrenimi Algoritmalarının Performanslarının Karşılaştırılması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 518-530.

To Cite: Aslan, E. (2024). Comparing The Performance of Machine Learning Algorithms in Predicting Energy Consumption of Electric Vehicles. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 518-530.

Elektrikli Araçların Enerji Tüketimini Tahmin Etmede Makine Öğrenimi Algoritmalarının Performanslarının Karşılaştırılması

Emrah ASLAN

Öne Çıkanlar:

- Elektrikli araçlar
- Yakıt tüketimi

Anahtar Kelimeler:

- Elektrikli araçlar (EA)
- Enerji tüketimi
- Makine öğrenimi

ÖZET:

Ulaştırma sektörünün hızlı büyümesi ve buna bağlı emisyonlar, çevresel sürdürülebilirliğin sağlanması önem teşkil etmektedir. Bu nedenle, ulaştırma emisyonlarının türetilme faktörünün anlaşılması son derece önemlidir. Artan ulaşım emisyonları karşısında elektrikli araçların (EA) rolü kullanımının yaygınlaştırılması önemlidir. Elektrikli araçların başarılı bir şekilde yaygınlaştırılması, büyük ölçüde enerji tüketimini verimli ve güvenilir bir şekilde tahmin edebilen enerji tüketim modellerine dayanmaktadır. Elektrikli araçların enerji tüketim verimliliğinin artırılması, sürücü endişesinin hafifletilmesine önemli ölçüde yardımcı olacak ve şarj altyapısının işletilmesi, planlanması ve yönetimi için temel bir çerçeve sağlayacaktır. Elektrikli araçların enerji tüketimi tahminindeki zorlukların üstesinden gelmek için veriler Japonya'nın Aichi Eyaletinde toplanmıştır. Çalışmada, elektrikli araçların enerji tüketiminin tahmini için geleneksel makine öğrenimi modelleri, Multi Output, Gradient Boosting, XGBoost ve Random Forest kullanılmıştır. Tahmin modellerinin performansını değerlendirmek için belirleme katsayısı (R^2), kök ortalama kare hatası (RMSE) ve ortalama mutlak hata (MAE) değerlendirme ölçütleri kullanılmıştır. Tahmin sonuçları, Gradient Boosting ve Multi Output birleşimi ile oluşturulan regresyon modeli iyi performans gösterdiğini ortaya koymaktadır. Daha yüksek R^2 değerlerine, daha düşük MAE ve RMSE değerlerine sahip Gradient Boosting ve Multi Output tabanlı modellerin daha doğru olduğu kanıtlanmıştır. Farklı girdi değişkenlerinin elektrikli araçların enerji tüketimi tahmini üzerindeki etkisini ve göreceli etkisini göstermek için ayrıntılı bir önemli özellik analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, gelişmiş bir makine öğrenmesi modelinin elektrikli araçların enerji tüketiminin tahmin performansını artırabileceğini göstermektedir.

Comparing The Performance of Machine Learning Algorithms in Predicting Energy Consumption of Electric Vehicles

Highlights:

- Electric vehicles
- Fuel consumption

Keywords:

- Electric vehicles (EVs)
- Energy consumption
- Machine learning

ABSTRACT:

In order to maintain environmental sustainability, it is crucial to address the transportation sector's explosive growth and the emissions that accompany it. Therefore, understanding the derivation factor of transportation emissions is of utmost importance. In the face of increasing transport emissions, it is important to expand the role of electric vehicles (EVs). An eco-friendly economy and low-carbon economy are made possible by electric automobiles. Energy consumption models that can accurately and consistently forecast energy use are critical to the successful deployment of electric vehicles. Enhancing EVs' energy efficiency will help reduce driver anxiety a great deal and offer a foundation for organizing, operating, and managing the infrastructure for charging. To overcome the challenges in estimating the energy consumption of electric vehicles, data was collected in Aichi Prefecture, Japan. In the study, traditional machine learning models, Multi Output, Gradient Boosting, XGBoost and Random Forest were used to predict the energy consumption of electric vehicles. The prediction models were assessed using the coefficient of determination (R^2), mean absolute error (MAE), and root mean square error (RMSE). The forecasting results reveal that the regression model with the combination of Gradient Boosting and Multi Output performs well. Gradient Boosting and Multi Output based models with higher R^2 values and lower MAE and RMSE values are proved to be more accurate To demonstrate the effect and relative influence of various input variables on the energy consumption forecast of electric vehicles, a thorough important feature analysis is carried out. The findings demonstrate that a sophisticated machine learning model can enhance the accuracy of electric car energy consumption predictions.

GİRİŞ

Ulaşım sektörü, küresel enerjinin önemli bir tüketicisi olarak hava kirliliğinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Hali hazırda dünya enerjisinin %30'undan fazlasını tüketmekte ve küresel petrol talebinin %60'ını yönlendirmektedir. Karayolu taşıtları tek başına bu enerji tüketiminin yaklaşık %80'ini katkıda bulunmaktadır (Alves ve ark., 2016; Amin ve ark., 2020). Dünya çapında hükümetler, ulaşımdaki enerji tüketimi ve hava kalitesi sorunlarını ele almak için giderek daha fazla adım atmaktadır. Ulaşımdan kaynaklanan hava emisyonlarını azaltmak için, özellikle de düşük karbonlu bir ekonomiye geçiş için fosil yakıtlara bağımlılığı azaltarak çok yönlü bir yaklaşım gereklidir. Elektrikli araçlar (EA'lar), özellikle yenilenebilir enerji kaynaklarından güç aldıklarında karbondioksit emisyonlarını önemli ölçüde azaltma potansiyeline sahip daha temiz ulaşım sistemlerine giden bir yol sunmaktadır (Xu ve ark., 2020; Koubaa ve ark., 2020). Ülkeler yenilenebilir enerjiyi giderek daha fazla benimsedikçe, elektrikli araçların ekolojik faydaları daha belirgin hale gelmekte ve daha temiz ve sürdürülebilir enerji sistemlerine doğru önemli bir adım atılmaktadır (Vita ve Koumides, 2019). Ayrıca, yenilenebilir enerji kaynaklarının elektrikli araç teknolojisi ile entegrasyonu hem enerji üretiminden hem de ulaşımdan kaynaklanan karbon emisyonlarını azaltmak için bir fırsat sunmaktadır. Birçok ülke elektrikli araçların benimsenmesini teşvik etmek için iddialı hedefler belirlemiş, hatta bazıları benzinli araç satışlarını yasaklamayı düşünmüştür (Chen ve ark., 2023). Örneğin, Norveç 2025 yılına kadar elektrikli araçların yeni araç satışlarının %100'ünü temsil etmesini hedeflerken, Çin aynı yıla kadar yıllık 7 milyon adet elektrikli araç satışı hedeflemektedir. Ayrıca, Amerika Birleşik Devletleri, Fransa ve Birleşik Krallık 2040 yılına kadar benzinli araç satışlarını durdurma planlarını açıklamış olup, otomotiv sektörü 2030 yılına kadar elektrikli araçların pazara hâkim olmasını hedeflemektedir (Hertzke ve ark., 2018).

Bununla birlikte, elektrikli araçların çevresel faydalarına ve pazardaki hızlı büyümesine rağmen, bazı zorluklar yaygın olarak benimsenmelerini engellemektedir. Bunlar arasında sınırlı sürüş menzili, uzun şarj süreleri, yüksek batarya değiştirme maliyetleri ve yetersiz şarj altyapısından kaynaklanan "menzil kaygısı" yer almaktadır. Bu çalışma, özellikle şarj altyapısını genişleterek ve batarya performansını artırarak ele alınabilecek sınırlı elektrikli araç sürüş menzili sınırlamasına odaklanmaktadır. Ancak, her iki çözüm de yüksek maliyetler getirmekte ve sürücülerin kalan sürüş menzili tahminlerine ilişkin endişelerini tamamen gidermemektedir. Hali hazırda, elektrikli araç menzil tahmin edicileri gerçek dünya araç verilerine dayandıkları için hassasiyetten yoksundur. Bu da önemli tahmin hatalarına yol açmakta ve sürücü güvenini zedelemektedir. Menzil tahmininin doğruluğunun artırılması, enerji tüketim oranlarının ve kalan akü kapasitesinin doğru bir şekilde tahmin edilmesini de içerecek şekilde sürücü güveninin artırılması için çok önemlidir.

Elektrikli araçların enerji tüketimini tahmin etmeye yönelik birçok çalışma, çeşitli metodolojiler kullanarak bu tahminleri gerçekleştirmeye çalışmıştır. Ancak, bu modellerin çoğu, teorik olarak yorumlanabilir olmalarına rağmen, gerçek dünya senaryoları için geçerli olmayabilecek doğrusal varsayımlara ve hata dağılımı terimlerine dayalı sınırlamalardan muzdariptir. Bu sınırlamalar, potansiyel olarak önyargılı tahminlere yol açabilir. Ayrıca, doğrusal olmayan ve karmaşık problemlere uygulandıklarında etkinlikleri azalır. Son yıllarda, hesaplama ve yumuşak hesaplama tekniklerindeki gelişmeler, geleneksel istatistiksel modellerin kısıtlamalarının üstesinden gelmeyi amaçlayan parametrik olmayan yöntemlerin ortaya çıkmasını teşvik etmiştir. Bu parametrik olmayan aileye ait makine öğrenimi (MÖ) modelleri, özellikle büyük veri kümelerini ele alırken üstün uyum yeteneklerinden ve yinelemeli optimizasyon süreçlerinden yararlanarak gerçek dünyadaki doğrusal olmayan ve karmaşık sorunları ele almada etkinlik göstermiştir (Huges ve ark., 2019; Paçal, 2023).

Etkileyici tahmin performanslarına rağmen, makine öğrenimi modelleri opak bilgi işleme ve çıktılarda yorumlanabilirlik eksikliği nedeniyle eleştirilere maruz kalmıştır. Doğruluk arzu edilen bir durum olsa da tahmin değişkenlerinin göreceli önemini anlaşılması birçok uygulamada genellikle çok önemlidir. Önceki araştırmalar ağırlıklı olarak çoklu doğrusal regresyon, karar ağaçları, rastgele ormanlar ve destek vektör makineleri gibi geleneksel makine öğrenimi modellerine dayanmış ve elektrikli araç enerji tüketimini etkileyen iç ve dış faktörler arasındaki etkileşimi sınırlı bir şekilde incelemiştir. Bu araştırma boşluklarını ele alan mevcut çalışma, gelişmiş ve yorumlanabilir makine öğrenimi modelleri kullanarak elektrikli araç enerji tüketiminin tahminini geliştirmeyi amaçlamaktadır. Bu çalışmanın başlıca katkıları aşağıda özetlenmiştir:

Japonya'nın Aichi şehrindeki 38.362 elektrikli araçtan oluşan gerçek dünya verilerini kullanarak elektrikli araçların enerji tüketimini doğru bir şekilde tahmin etmek için sistematik bir makine öğrenimi yöntemi geliştirdik. Multi Output, Gradient Boosting, XGBoost, and Random Forest Regresyonları ile elektrikli araç enerji tüketimi modellenmiştir. Bu gelişmiş MÖ modellerinin tahmin performansını geleneksel MÖ Regresör modelleriyle karşılaştırılmıştır. MÖ tahmin modellerini uygulamadan önce, model doğruluğunu artırmak için veri temizleme, normleştirme ve standardizasyon dahil olmak üzere çeşitli istatistiksel testler gerçekleştirilmiştir. Modelleri belirleme katsayısı (R^2), Ortalama Hatanın Karekökü (RMSE) ve ortalama mutlak hata (MAE) gibi çeşitli istatistiksel ölçütler kullanarak değerlendirilmiştir. Modelleme yaklaşımımız yolculuk hızı, mesafe, ısıtıcı ve klima kullanımı, ortam sıcaklığı ve yol eğimi dahil olmak üzere hem iç hem de dış etki değişkenlerini dikkate almaktadır.

Çalışma şu şekilde yapılandırılmıştır: Bölüm 2'de ilgili literatür gözden geçirilmektedir. Bölüm 3, veri toplama, ön işleme ve MÖ model geliştirmeyi kapsayan EA enerji tüketimini tahmin etmek için önerilen metodolojiler detaylandırmaktadır. Bölüm 4'te bulgular ve tartışma sunulmaktadır. Son olarak, Bölüm 5, temel bilgileri özetleyerek ve gelecekteki araştırmalar için yolları özetleyerek makaleyi sonuçlandırmaktadır.

İlgili Çalışmalar

Literatürde, elektrikli araçların enerji tüketimi için analitik modeller kullanan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Analitik yöntem, araç boylamsal dinamiklerine ve mevcut enerji verimli haritalardan elektrik motoru kayıplarının tahminine dayalı olarak çalışmaktadır (Hong ve ark., 2016). Araç dinamiği teorisinden hareketle, boylamsal araç dinamiği, karşıt kuvvetlerin üstesinden gelmek için tekerleklerin ihtiyaç duyduğu gücü ölçmek üzere modellenmiştir (Paçal, 2024). Önceki birkaç çalışmada, rejenerasyon mekanizması yokuş aşağı sürüş veya frenleme sırasında geri kazanılan enerjiyi ölçmek için araç hızının doğrusal fonksiyonları olarak modellenmiştir veya yavaşlama oranının bir fonksiyonu olarak tanımlanabilir.

İstatistiksel modeller, elektrikli araçların enerji tüketiminin tahmininde yaygın olarak kullanılır ve gerçek dünya sürüş verilerini kullanarak elektrikli aracın enerji tüketimi ile diğer faktörler arasındaki ampirik ilişkileri araştırır. Bu modeller hem güç aktarma organlarının verimliliğini hem de elektrikli aracın dinamik davranışını hesaba katmak için geliştirilmiştir (De Cauwer ve ark. 2015). Lopez ve Fernandez, bataryalı elektrikli araç enerji tüketimi için bir MÖ modeli kullanmıştır (Lopez ve Fernandez, 2020). Model tahmin doğruluğu ve elde edilen sonuçlar bir vaka çalışması geliştirilerek gösterilmiştir. Bu çalışmada gerçek dünya elektrikli araç enerji tüketim verileri kullanılmamıştır. Liu ve arkadaşları, yol eğiminin elektrikli araçların enerji tüketimi üzerindeki etkisini araştırmak için doğrusal bir regresyon modeli uygulamıştır (Lui ve ark., 2017). Elde ettikleri sonuçlar, yol eğimlerinin enerji tüketimi üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak, doğru modellemeye katkıda bulunabilecek ortam sıcaklığını kullanmamışlardır. Wang ve arkadaşları, elektrikli araçların enerji tüketiminin tahminini

geliştirmek için geleneksel bir doğrusal regresyon ve çok düzeyli karışık etkili doğrusal regresyon yöntemi önermiştir (Wang ve ark., 2017). Çalışmalarının bulguları, önerilen modelin elektrikli araçların enerji tüketimini tahmin etmede kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Liu ve arkadaşları, elektrikli araçların enerji tüketimi üzerindeki etki faktörlerini tahmin etmek için çok düzeyli karışık etkili bir doğrusal regresyon modeli kullanmıştır (Liu ve ark., 2016). Elde ettikleri sonuçlar, enerji tüketiminin yardımcı yükten etkilendiğini ortaya koymuştur. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda elektrikli araçların enerji tüketimi tahmini için istatistiksel yöntemler kullanılmıştır. Büyük hacimli veriler dağınık olabileceğinden, istatistiksel model genellikle iyi performans gösteremez. Öte yandan, makine öğrenimi algoritmaları tahmin doğruluğunu artırmakta ve gerçek veriler ile tahmin edilen veriler arasındaki hatayı azaltmaktadır. Önceki araştırmalar MÖ algoritmalarının istatistiksel yaklaşımlardan önemli ölçüde daha iyi performans gösterdiğine tanık olmuştur. Çünkü makine öğrenimi algoritmaları değişkenler arasındaki doğrusal olmayan ilişkiyi kontrol edebilir ve birçok alanda mükemmel kalibreli tahmin yapmalarını sağlayan daha az model varsayımına sahiptir.

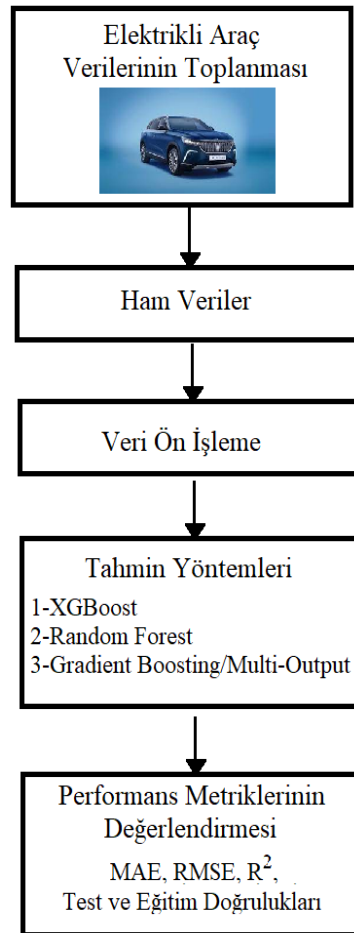
Son zamanlarda, elektrikli araçların enerji tüketimi tahmini için makine öğrenimi tabanlı yaklaşımlar uygulanmaktadır. MÖ'ne dayalı hesaplama modelleri, elektrikli aracın enerji tüketimini etkileyen çeşitli faktörler arasındaki ilişkileri incelemeyi amaçlamaktadır. MÖ modeli, eğitim algoritması tarafından göreceli önemine bağlı olarak her faktör için ağırlığın hesaplandığı girdi değişkenlerinin bir fonksiyonu olarak elektrikli aracın enerji tüketimini tahmin etmek için kullanılabilir. Alvarez ve arkadaşları, elektrikli araçların sürüş davranışını ve enerji tüketimini tahmin etmek için yapay sinir ağı (YSA) modelini kullanmıştır. Araç hızı, hızlanma ve sarsıntı olmak üzere üç girdi değişkeni kullanılmıştır. Ancak, sadece 10 sürücünün verilerini test etmişlerdir ki bu da örneklem özelliklerini yeterince temsil etmemektedir. Bi ve ark. araca özgü beş iç faktör kullanarak elektrikli araçların artık menzil tahmini için bir sinir ağı önermiştir (Bi ve ark., 2018). Elde ettikleri sonuçlar, önerilen modelin iyi bir tahmin doğruluğuna sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, iç etki faktörlerini göz ardı etmişlerdir. Bolvinou ve arkadaşları, elektrikli aracın sürüş menzili ve enerji tüketimini tahmin etmek için çeşitli MÖ modellerini araştırmıştır (Bolvinou ve ark., 2014). Bulguları, regresyon modeli yükseklik olmadan ve yükseklikle eğitilmiş bir model üzerinde test edildiğinde, sırasıyla 1,64 km ve 1,95 km MAE elde edildiğini göstermiştir. Modi ve arkadaşları, sürücü menzil kaygısını azaltmak amacıyla elektrikli aracın enerji tüketimini tahmin etmek için bir konvolüsyonel sinir ağı önermiştir (Modi ve ark., 2020). Önerilen teknik, mevcut diğer beş modelle karşılaştırılmıştır. Elde ettikleri sonuç, önerilen tekniğin daha iyi performans gösterdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, yazar sadece üç parametre kullanmış ve sıcaklık ile yardımcı yükü göz ardı etmiştir. Felipe ve arkadaşları, aynı YSA modelini kullanarak giriş değişkenleri rota bilgilerini ekleyerek çalışmayı genişletmiştir (Felipe ve ark., 2015). Sonuç olarak, bu modeller sürücüyü akünün kalan enerjisi hakkında yönlendirmek için gerçek zamanlı olarak kullanılamaz. Li ve arkadaşları, elektrikli otobüs enerji tüketimini tahmin etmek için KNN ve RF modellerini kullanmıştır (Li ve ark., 2021). Elde ettikleri sonuçlar, önerilen RF modelinin mevcut modellere kıyasla doğru model tahminine sahip olduğunu göstermiştir. Abdelaty ve arkadaşları, transit elektrikli otobüs enerji tüketimini tahmin etmek için yedi geleneksel MÖ modeli önermiştir (Abdelaty ve ark., 2021). Bulgular, MÖ ve SVR'nin diğer modellerden daha iyi performans gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, özellikle sürüş menzili üzerinde önemli bir etkiye sahip olan yol eğimini göz ardı etmişlerdir. Bu çalışmalarda az sayıda harici ve dahili özel değişken ve küçük veri seti kullanılmıştır. Bununla birlikte, uygulanan MÖ modellerinin nispeten geleneksel olduğu ve zaman içinde giderek geliştiği görülmektedir. Bu nedenle, gelişmiş MÖ modelleri, daha iyi tahmin doğruluğu

için tahmin hatasını en aza indirmek amacıyla elektrikli araçların enerji tüketimi tahmininde kullanılabilir.

MATERYAL VE METOT

Elektrikli Araçların Enerji Tüketimi Tahmini İçin Önerilen Metodoloji

Bu çalışmanın temel amacı, elektrikli araçların enerji tüketiminin daha iyi tahmin doğruluğu için bir tahmin modeli geliştirmektir. Bu çalışmada, elektrikli araçların enerji tüketimini tahmin etmek için hem istatistiksel hem de makine öğrenimi modellemesine dayalı bir yöntem sunulmaktadır. Modelin geçerliliğini ve rasyonelliğini sağlamak için, regresyon analizine dayanan yerleşik tahmin modeli, bir dizi istatistiksel test (veri temizleme, normalleştirme ve standardizasyon) kullanılmıştır. Önerilen yöntemi; veri toplama ve değişken tanımlama, ön işleme, MÖ algoritması ve tahmin modelinin değerlendirilmesi olmak üzere dört ana aşamaya ayrılmıştır. Veri toplama aşamasında, araştırma çalışmasında kullanılan kapsamlı verileri ele alınmıştır. Ön işleme aşamasında, veri gürültüsü, aykırı değerlerin temizlenmesi, normalleştirme ve standardizasyon gerçekleştirilmiştir. Tahmin aşamasında, farklı MÖ algoritmaları kullanılmıştır. Performans değerlendirmesinde, tahmin algoritmalarının performansını ölçmek için MAE, RMSE ve R² performans ölçütleri kullanılmıştır. Şekil 1 önerilen yöntemin yapısını göstermektedir.



Şekil 1. Önerilen EA enerji tüketimi tahmin işlem yapısı

Uygulamada kullanılan veri setine Kaggle üzerinden açık erişimli olarak <https://www.kaggle.com/datasets/ahmedramadanmephi/battery-electric-vehicles/data> url adresinden erişim sağlanmaktadır. Çizelge 1, EA'ların enerji tüketimi veri setini göstermektedir.

Çizelge 1. EA'ların enerji tüketimi veri-seti

| DEĞER | AÇIKLAMA |
|---------------|--|
| Transmission | Otomatik şanzıman 1-10 vites sayısı |
| Fuel Type | Yakıt tipi elektrik |
| C_City | Şehir içi sürüş yakıt tüketimi |
| C_Hwy | Otoban sürüş yakıt tüketimi |
| C_Com | Karma yakıt tüketimi |
| CO2 Emission | Karma şehir içi ve otoyol sürüşü için karbondioksit egzoz emisyonları (kilometre başına gram cinsinden). |
| CO2 Rating | Karbondioksit egzoz emisyon derecelendirmesi. 1'den (en kötü) 10'a (en iyi) kadar. |
| Smog rating | Duman oluşturan kirleticilerin egzoz borusu emisyon derecelendirilmesi. 1'den (en kötü) 10'a (en iyi) kadar. |
| Range | Tam şarjlı bir batarya ile tahmini sürüş mesafesi (kilometre cinsinden) |
| Recharge time | Aküyü tamamen şarj etmek için tahmini süre (saat olarak) |
| Make | Araç firması |
| Model | Aracın modeli |
| Model_Year | Aracın üretim yılı |
| Motor | Araç motorunun gücü (kW) |

Veri Ön İşleme

Veri ön işleme, MÖ algoritmalarından önce verileri yönetmek için önemli bir adımdır. Modelin öngörü performansını artırmak için, veri hazırlama işlemi her model geliştirilmeden önce gerçekleştirilmiştir. İşlem, veri gürültüsü, aykırı değer temizliği, normalleştirme ve standartlaştırma gibi birkaç aşamadan oluşur. Veri hazırlığında, ilk adım elde edilen veri setinden aykırı değerlerin çıkarılmasıdır. Aykırı değerler nedeniyle veri setinde belirsizlik ve hata olabilir, bu da doğrusal regresyon yaklaşımının etkinliğini azaltabilir. İlgili değişkenler seçildikten sonra, ön işleme, aykırı değerlerin kaldırılması ve veri setinin normalleştirilmesi de dahil olmak üzere önemlidir. Bu çalışmada, veri normalleştirme işlemi gerçekleştirilmiş ve veri setinin aykırı değerleri elemine edilmiştir. Aykırı değerlerin kaldırılması için kutu grafikleri gibi uygun bir grafik tekniği seçilmiştir.

EA'lerin Enerji Tüketimini Tahmin Etmek İçin MÖ Algoritması

EA'lerin enerji tüketimini tahmin etmek için birkaç MÖ algoritması kullanılmıştır. Veri seti iki aşamaya ayrılmıştır (eğitim ve test setleri). Bu aşama, önerilen MÖ algoritmasının etkinliğini kontrol etmek için önemlidir. Veri setlerinin eğitim kısmı kullanılarak, önerilen algoritmalar eğitilir ve ardından ikinci kısım test amaçları için kullanılır. Bu, kurulan modelin yeni verilere ilk kez işlenmiş yanıtını göstermek açısından önemlidir. Bu çalışmada, veri seti %80 eğitim ve %20 test için bölünmüştür. Sonraki bölüm, bireysel model özelliklerini ve uygulama sürecini açıklar.

Multi output regressor

Multi Output Regressor, çoklu çıkışlı regresyon problemleri için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, her bir çıkışı tek başına ele alan bir dizi regresyon modelini bir araya getirerek çoklu hedefli problemleri çözmeyi amaçlar. Bu regressor scikit-learn kütüphanesinde yer alır ve çoklu hedeflerin bir arada ele alınması sağlar. Multi Output Regressor kullanımında, bir temel regresyon algoritması belirlenir (örneğin, Lineer Regresyon). Ardından, her çıkış için ayrı bir regresyon modeli oluşturulur. Bu modeller, belirtilen temel regresyon algoritması kullanılarak eğitilir. Sonuç olarak, bu yöntem, çoklu hedefli regresyon problemlerinde kullanılan çeşitli modelleri bir araya getirerek genel bir tahmin yapma yeteneği sunar. Bu, özellikle birçok bağımlı değişkenin bulunduğu karmaşık regresyon problemleri için kullanışlı bir tekniktir.

XGBoost

Son zamanlarda makine öğrenimi yarışmalarında ve endüstriyel uygulamalarda büyük başarı elde etmiş bir öğrenme algoritmasıdır. Gradient Boosting yöntemlerine dayanır, ancak özellikle

ölçeklenebilirlik, hız ve doğruluk açısından geliştirilmiştir. XGBoost'un temel çalışma prensibi, birçok zayıf tahmin ediciyi (genellikle karar ağaçları) bir araya getirerek güçlü bir tahminci oluşturmaktır. Model, önceki tahminlerin hatalarını düzeltmeye odaklanarak ardışık olarak bu tahmin edicileri eğitir. Bu, bir sonraki tahmin ediciyi eğitmek için kullanılan veri setindeki hataları minimize etmek için bir gradyan inişi yaklaşımıdır. XGBoost'un bazı önemli özellikleri şunlardır:

Ölçeklenebilirlik: Büyük veri setleriyle başa çıkabilir ve çoklu işlemcileri veya dağıtılmış sistemleri kullanarak hızlı bir şekilde eğitim yapabilir.

Hız: Optimizasyonları sayesinde diğer gradient boosting kütüphanelerine göre daha hızlıdır.

Regülerizasyon: Aşırı öğrenmeyi önlemek için çeşitli regülerizasyon tekniklerini destekler.

Esneklik: Sınıflandırma, regresyon, sıralama ve diğer birçok problem türünü destekler.

XGBoost, birçok endüstriyel uygulamada ve yarışmalarda liderlik eden modellerin geliştirilmesinde sıkça kullanılmaktadır.

Random forest

Karar ağaçları üzerine kurulu bir topluluk öğrenme algoritmasıdır. Temelinde birden çok karar ağacının bir araya getirilmesiyle oluşan bir topluluk yöntemidir. Random Forest, her bir ağacı farklı bir şekilde eğitir ve ardından tahminlerini bir araya getirerek daha güçlü ve dengeli bir tahminci oluşturur. Random Forest'in ana özellikleri şunlardır:

- **Rastgele Örneklem (Bootstrap):** Her bir karar ağacı, rastgele olarak veri setinden örneklem alır. Bu, her bir ağacın farklı bir alt küme üzerinde eğitilmesini sağlar.

- **Rastgele Özellik Seçimi:** Her bir karar ağacı, her düğümde özelliklerin bir alt kümesini kullanarak eğitilir. Bu, her ağacın farklı özellikler üzerinde eğitilmesini sağlar.

- **Ağaçların Birleştirilmesi:** Her bir karar ağacı eğitildikten sonra, tahminler bir araya getirilir. Sınıflandırma durumunda, sınıfların çoğunluğu alınırken, regresyon durumunda ortalama değer alınır.

- **İyi Performans:** Genellikle diğer sınıflandırma ve regresyon algoritmalarından daha iyi performans gösterir.

- **Aşırı Öğrenmeyi Önleme:** Birden çok ağacın birleştirilmesi, aşırı uyum riskini azaltır.

- **Dengeli Sonuçlar:** Çeşitli veri setleri ve özellikler üzerinde iyi bir performans gösterir.

Random Forest, sınıflandırma, regresyon ve özellik seçimi gibi birçok makine öğrenimi probleminde başarıyla kullanılmaktadır.

Gradient boosting regressor

Gradient Boosting, ensemble learning adı verilen bir yöntemi temsil eder. Bu yöntem, bir dizi zayıf öğreniciyi (genellikle karar ağaçları) birleştirerek, karmaşık ve güçlü bir öğrenici elde etmeyi amaçlar. Gradient Boosting Regressor, özellikle regresyon problemleri için kullanılan bir uygulamadır. İlk aşamada, algoritma, veri setindeki değerlerin ortalamasını tahmin eden bir başlangıç modeli oluşturur. Daha sonra, her aşamada önceki modelin hatalarını düzeltmeye odaklanan yeni bir model eklenir.

Bu algoritmanın temelinde, gradyan iniş (gradient descent) kullanılarak bir kayıp fonksiyonu minimize edilir. Her model eklenirken, hedef, mevcut modelin tahminlerinden oluşan bir artık (hata) vektörüdür. Sonraki model, bu artığı minimize etmeye çalışarak güçlü bir tahmin yapmaya çalışır. Bu süreç, belirlenen bir iterasyon sayısına veya belirli bir hata eşliğine ulaşıncaya kadar devam eder. Sonunda, tüm modellerin tahminleri ağırlıklı olarak birleştirilerek nihai regresyon tahmini elde edilir. Gradient Boosting Regressor, esnekliği, dayanıklılığı ve yüksek performansı nedeniyle birçok regresyon probleminde tercih edilen bir yöntemdir.

Tahmin Doğruluğu Ölçümü

Tahmin modelinin uygunluğunu değerlendirmek için performans metriği kullanıldı. Başlangıç model varsayımlarının doğrulanmasından ve değerlendirilmesinden sonra, regresyon modelinin etkinliği ve tahmin yeteneğinin analiz edilmesi önemlidir. Tahmin modelinin etkinliğini nicel olarak karşılaştırmak için üç istatistiksel matris kullanıldı: R^2 , MAE ve RMSE. Matematiksel denklemler aşağıda yazılmıştır (Ullah ve ark., 2022).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (Y_{i,m} - Y_{i,e})^2}{\sum_{i=1}^n (Y_{i,m} - \bar{Y}_{i,m})^2} \quad (1)$$

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |Y_{i,m} - Y_{i,e}| \quad (2)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_{i,m} - Y_{i,e})^2} \quad (3)$$

Burada $Y_{i,m}$ ölçülen EA'ların enerji tüketimini, $Y_{i,e}$ tahmini EA'ların enerji tüketimini, $\bar{Y}_{i,m}$ ortalama ölçülen EA'ların enerji tüketimini ve n gözlemlerin sayısını temsil eder. Düşük MAE ve RMSE değeri, daha iyi model etkinliğini tercih ederken, tersine, daha yüksek bir R^2 değeri (1'e daha yakın) regresyon çizgisinin verilere iyi uydurulduğunu ve modelin daha iyi performans gösterdiğini gösterir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

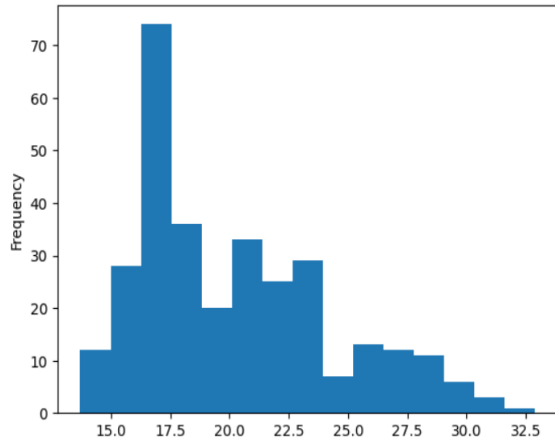
MÖ Algoritma Değerlendirmesi

EA'ların enerji tüketimini tahmin etmek için dört MÖ algoritması kullanıldı. Bunlar; Multi Output, Gradient Boosting, XGBoost ve Random Forest regresörleridir. Veri seti eğitim ve test setleri olarak iki gruba ayrıldı ve tüm modeller aynı veri setine dayanarak geliştirildi. Bu çalışmada, veri seti %80 eğitim ve %20 test için ayrıldı. Farklı algoritmalar için parametre seçimleri belirlendi. Her MÖ algoritması bazı parametre ayarlarına sahiptir. Her yöntem için en uygun parametreleri belirlemek için bir çapraz doğrulama testi kullanılır. Sonuç olarak, her yöntem için en iyi performansa katkıda bulunan en uygun parametreler belirlenir.

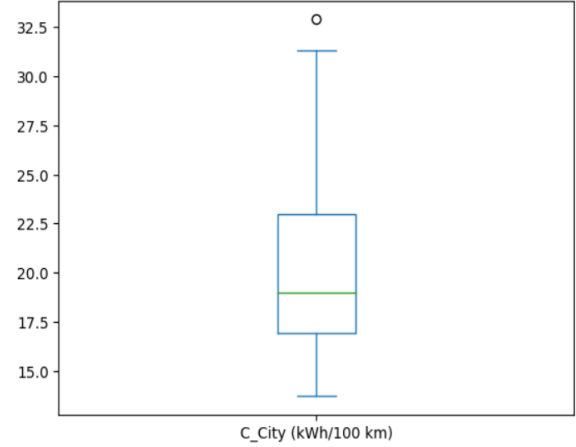
Çalışmada farklı yıllara ve modellere ait EA yakıt tüketimi bilgisi bulunmaktadır. Veri seti içerisinde yer alan şehir içi tüketim (C_City) ve Şehirlerarası (C_Hwy) değerlerine ait histogram ve kutu grafikleri Şekil 2'de verilmiştir.

Çizelge 2'de XGBoost Regressora ait hiperparametreler verilmiştir. Eğitimler sonucunda elektrikli araçların yakıt tüketimi tahmin etmede XGBoost Regressor algoritması %99.94 eğitim başarımları ve %93.17 test başarımları elde etmiştir. Kök Ortalama Kare Hatası (RMSE) 0.80, Ortalama Mutlak Hata (MAE) 0.63, R^2 Score 93.17 olarak hesaplanmıştır. C_City için RMSE 0.86 ve C_Hwy için 0.74 olduğu görülmüştür. XGBoost Regressor algoritması ile C_City ve C_Hwy tahmin edilen EA yakıt tüketimi ve gerçek yakıt tüketimi değerlerinin tahminini gösteren grafik Şekil 3'de verilmiştir.

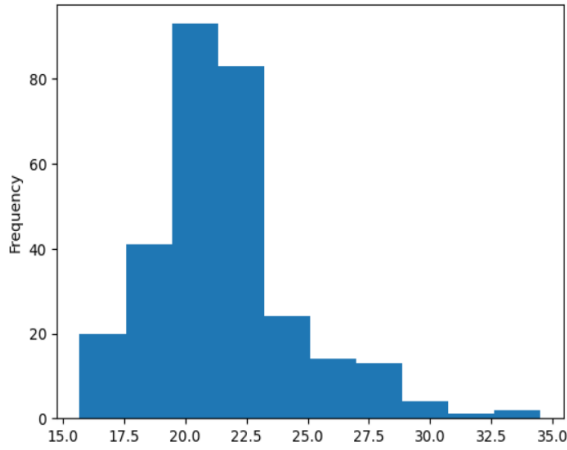
Çizelge 3'de Random Forest Regressora ait hiperparametreler verilmiştir. Eğitimler sonucunda elektrikli araçların yakıt tüketimi tahmin etmede Random Forest Regressor algoritması %98.20 eğitim başarımları ve %91.84 test başarımları elde etmiştir. Kök Ortalama Kare Hatası (RMSE) 0.89, Ortalama Mutlak Hata (MAE) 0.50, R^2 Score 91.84 olarak hesaplanmıştır.



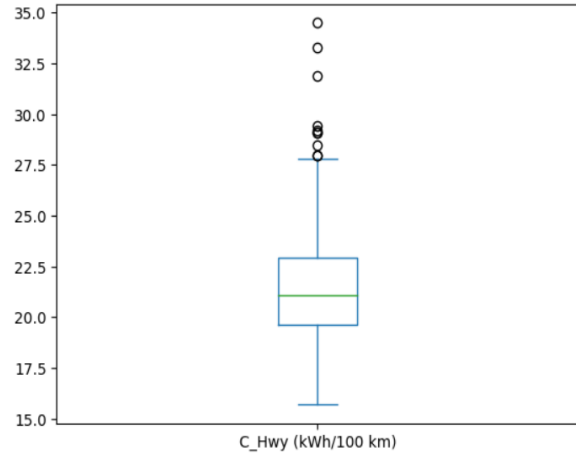
a)C_City histogram grafiği



b) C_City kutu grafiği



a)C_Hwy histogram grafiği



b) C_Hwy kutu grafiği

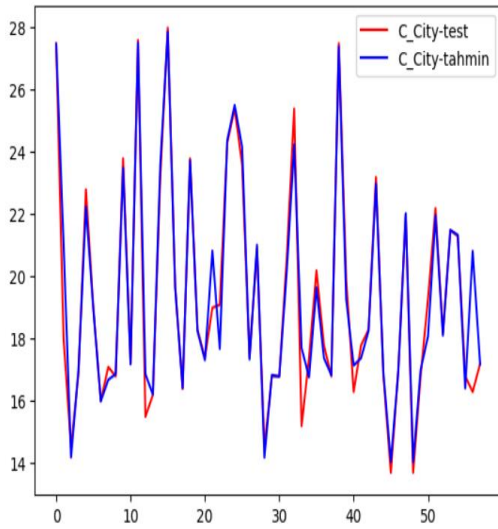
Şekil 2. Eğitim setinde bulunan C_City ve C_Hwy parametrelerinin histogram ve kutu grafikleri

Çizelge 2. XGBoost Regressor Parametreleri

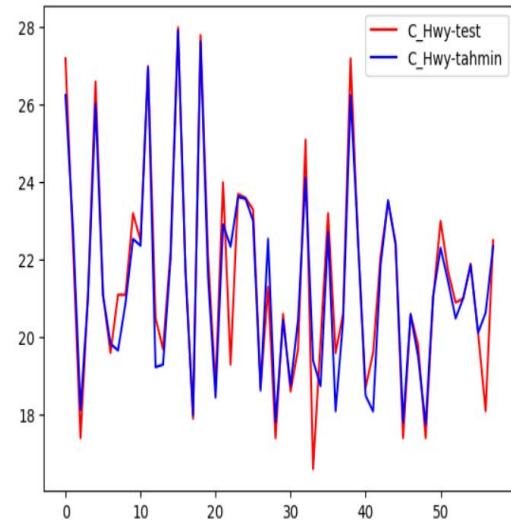
| Parametreler | Değerler |
|---------------|----------|
| booster | gbtree |
| verbosity | 1 |
| eta | 0.3 |
| learning_rate | 0.99 |
| max_dept | 6 |
| n_estimators | 50 |

Çizelge 3. Random Forest Regressor Parametreleri

| Parametre | Değer |
|--------------|----------|
| n_estimators | 1000 |
| criterion | log_loss |
| max_depth | 6 |
| max_iter | 10 |
| random_state | 10 |



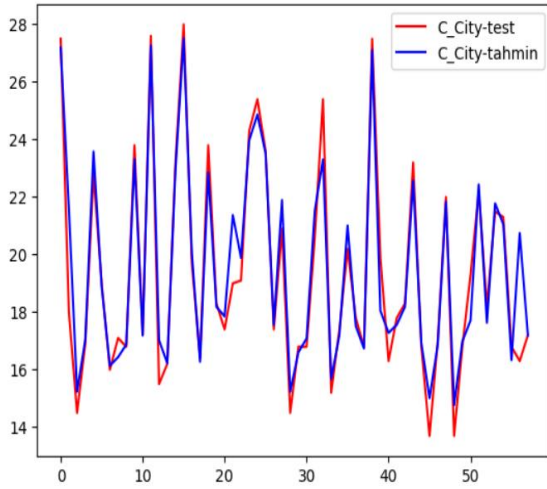
a) C_City yakıt tüketim tahmini



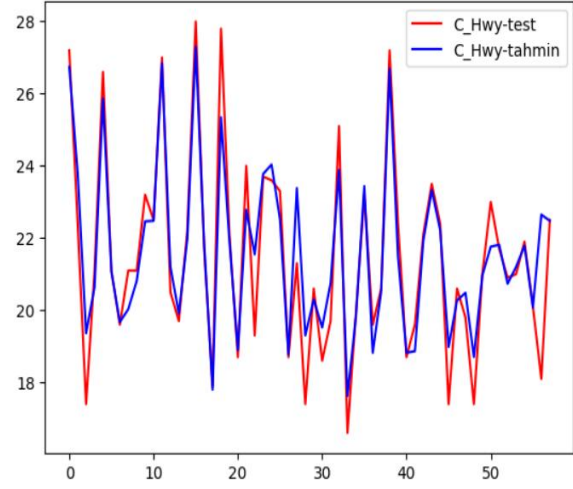
b) C_Hwy yakıt tüketim tahmini

Şekil 3. XGBoost Regressor ile doğru yakıt tüketimi ve tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması

C_City için RMSE 0.88 ve C_Hwy için 0.90 olduğu görülmüştür. Random Forest Regressor algoritması ile C_City ve C_Hwy tahmin edilen EA yakıt tüketimi ve gerçek yakıt tüketimi değerlerinin tahminini gösteren grafik Şekil 4'de verilmiştir.



a) C_City yakıt tüketim tahmini



b) C_Hwy yakıt tüketim tahmini

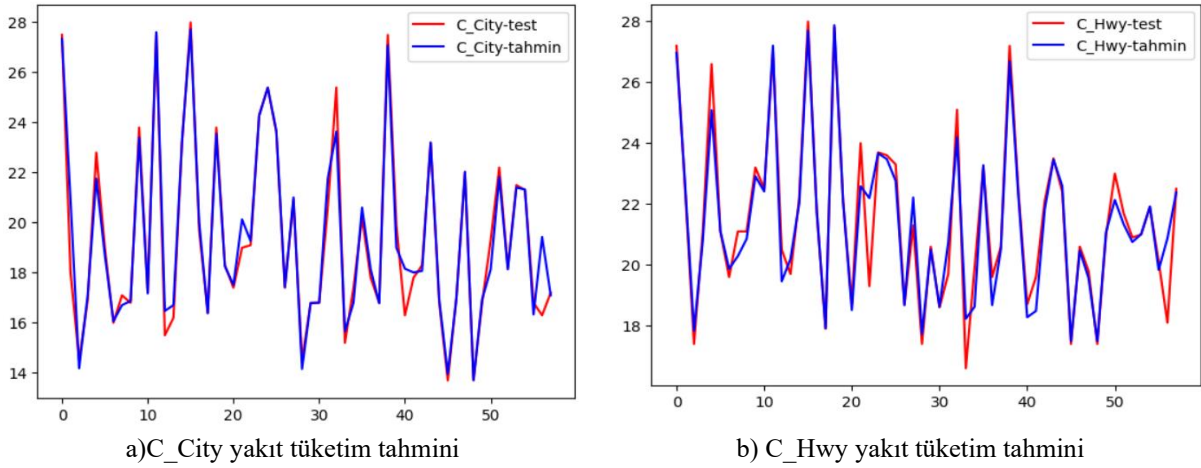
Şekil 4. Random Forest Regressor ile doğru yakıt tüketimi ve tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması

Çizelge 4. Gradient Boosting Regressor Parametreleri

| Parametre | Değer |
|--------------|---------------|
| n_estimators | 1000 |
| loss | huber |
| criterion | squared_error |
| max_depth | 6 |
| random_state | 10 |

Çizelge 4'de Gradient Boosting Regressora ait hiperparametreler verilmiştir. Gradient Boosting Regressora ait ayarlamalar yapıldıktan sonra Multi Output Regressor içerisinde çalıştırılarak sonuçlar elde edilmiştir. Eğitimler sonucunda elektrikli araçların yakıt tüketimi tahmin etmede Gradient Boosting ve Multi Output Regressor algoritması %99.99 eğitim başarımı ve %95.86 test başarımı elde etmiştir. Kök Ortalama Kare Hatası (RMSE) 0.59, Ortalama Mutlak Hata (MAE) 0.44, R² Score 95.86 olarak

hesaplanmıştır. C_City için RMSE 0.59 ve C_Hwy için 0.59 olduğu görülmüştür. Gradient Boosting ve Multi Output Regressor algoritması ile C_City ve C_Hwy tahmin edilen EA yakıt tüketimi ve gerçek yakıt tüketimi değerlerinin tahminini gösteren grafik Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. Gradient Boosting ve Multi Output Regressor ile doğru yakıt tüketimi ve tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması

MÖ Algoritmasının Karşılaştırmalı Performansı

Bu çalışmanın amacı, EA'ların enerji tüketimini tahmin etmek için en son MÖ algoritmalarının etkililiğini karşılaştırmaktır. Eğitim doğruluğu, test doğruluğu, R^2 , Ortalama Mutlak Hata (Mean Absolute Error - MAE) ve Ortalama Karesel Hata Kökü (Root Mean Squared Error - RMSE), metrikleri üzerinden karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir. Farklı modeller için EA'ların enerji tüketimi tahminleri Çizelge 5'te gösterilmiştir. Tablo 5'de görüldüğü gibi, tüm modeller yakıt tüketimini iyi sonuçlar ile tahmin etmektedir.

Çizelge 5. Tüm modellerin sonuçlarının karşılaştırılması

| Regresyon Modelleri | Performans değerlendirme metrikleri | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------|------|------|-------|
| | Eğitim Doğruluğu | Test Doğruluğu | MAE | RMSE | R^2 |
| XGBoost | 99.94 | 93.17 | 0.80 | 0.63 | 93.17 |
| Random Forest | 98.20 | 91.84 | 0.50 | 0.89 | 91.84 |
| Gradient Boosting ve Multi Output | 99.99 | 95.86 | 0.44 | 0.59 | 95.86 |

Verilen çizelgede, üç regresyon modeli XGBoost, Random Forest ve Gradient Boosting/Multi Output Regressor elektrikli araçlarda yakıt tüketimini tahmin etmek için performans metriklerine göre değerlendirilmiştir. Eğitim ve test doğruluk yüzdeleri, her modelin verileri ne kadar iyi tahmin ettiğini gösterir. Çizelge 5'de görüldüğü gibi XGBoost %99,94 ile en yüksek eğitim doğruluğunu göstererek eğitim verilerine neredeyse mükemmel bir şekilde tahmin etmiştir. Ancak %93,17'lik test doğruluğunda görüldüğü gibi üstün bir genelleme anlamına gelmemekte ve belirli bir düzeyde aşırı uyuma işaret etmektedir. XGBoost için Ortalama Mutlak Hata ve Ortalama Karesel Hata Kökü sırasıyla 0,80 ve 0,63'tür. Bu değerler modelin tahminlerdeki hataların ortalama büyüklüğünü yansıtır. R^2 skorunun %93,17 olması da modelin hedef değişkendeki varyansı açıklama kabiliyetinin altını çizmektedir.

Öte yandan Random Forest, %98,20 ile biraz daha düşük bir eğitim doğruluğu sergileyerek XGBoost'a kıyasla eğitim verilerine marjinal olarak daha az karmaşık bir uyum göstermektedir. Test doğruluğu %91,84'tür. Random Forest, XGBoost'a kıyasla daha düşük bir MAE 0,50'ye sahiptir. Ancak daha yüksek bir RMSE 0,89 değerini göstermektedir. Bu da hassasiyet ve doğruluk arasında potansiyel bir değiş tokuşa işaret eder. Random Forest için R^2 skoru %91,84'tür ve bu da modelin güçlü bir açıklayıcı gücü olduğunu göstermektedir. Son olarak, Gradient Boosting/Multi Output Regressor

%99,99 ile en yüksek eğitim doğruluğuna ulaşarak eğitim verilerindeki karmaşık örüntüleri yakalama yeteneğini vurgulamaktadır. En düşük MAE 0,44 ve RMSE 0,59 ile birlikte %95,86 test doğruluğu ile üç model arasında en iyi genellemeyi göstermektedir. R^2 skoru %95,86'dır ve elektrikli araçlar için yakıt tüketimi tahminindeki varyansı açıklamada sağlam bir performansa işaret etmektedir. Genel olarak, seçilen regresyon modelleri kabul edilebilir tahminlerde bulunmuştur. Sonuç olarak, gelişmiş MÖ modellerinin daha iyi tahmin doğruluğuna sahip olduğunu ve Gradient Boosting/Multi Output Regressor EA'ların enerji tüketimi tahmininde daha etkili olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışma, elektrikli araçların yakıt tüketimini tahmin etmek için makine öğrenimi algoritmalarının uygulanmasına yöneliktir. Elektrikli araçlar için yakıt tüketiminin tahmin edilmesi bağlamında, makine öğrenimi yöntemlerinin uygulanması üç önde gelen regresyon modeli kullanılarak araştırılmıştır: XGBoost, Random Forest ve Gradient Boosting/Multi-Output. Bu modeller çeşitli performans ölçütlerine göre değerlendirilerek güçlü ve zayıf yönleri gösterilmiştir. %99,99'lük etkileyici bir eğitim doğruluğuna sahip olan XGBoost, %93,17'lik daha düşük bir test doğruluğu ile kanıtlandığı üzere potansiyel aşırı uyum konusunda endişelere yol açmaktadır. Orta düzeyde MAE ve RMSE değerleriyle makul bir hassasiyet göstermesine rağmen, yeni verilere zayıf genelleme riski nedeniyle dikkatli olunması gerekmektedir. %98,20'lik biraz daha düşük bir eğitim doğruluğu ile karakterize edilen Random Forest, hassasiyet ve doğruluk arasında bir denge kurmaktadır. Model, %91,84'lük bir test doğruluğu sergilemekte ve %91,84'lük R^2 puanına yansıyan güçlü bir açıklama gücünü korumaktadır. Random Forest, daha düşük MAE ile hassasiyet ve daha yüksek RMSE ile doğruluk arasında bir denge bulundurmaktadır. Değerlendirilen modeller arasında en iyi performansı Gradient Boosting/Multi-Output Regressor göstermektedir. %99,99'lük en yüksek eğitim doğruluğu ile %95,86'lık bir test doğruluğu elde ederek genelleme konusunda üstünlük sağlamıştır. Model, en düşük MAE ve RMSE değerlerinin gösterdiği gibi üstün bir hassasiyet sergilemektedir. Makine öğrenimi yöntemlerinin, özellikle de Gradient Boosting/Multi-Output Regressor yönteminin, elektrikli araçlarda yakıt tüketimini doğru tahmin ettiği görülmektedir. Bu durum, enerji kullanımının optimize edilmesi, kaynakların planlanması ve ulaşım sektöründeki sürdürülebilirlik çabalarına katkıda bulunulması açısından önemli sonuçlar doğurmaktadır. Bu bulgular, gelişmiş makine öğrenimi tekniklerinden yararlanmanın elektrikli araçlarda doğru yakıt tüketimi tahminine önemli ölçüde katkıda bulunabileceğini ve ulaşım sektöründe optimizasyon, kaynak planlaması ve sürdürülebilirlik için potansiyel faydalar sunabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelaty, H., Al-Obaidi, A. & Mohamed, M. (2021). Machine learning prediction models for battery-electric bus energy consumption in transit. *Transportation Research Part D: Transport and Environment*, 96, 102868.
- Alves, J., Baptista, P. C. & Gonçalves, G. A. (2016). Indirect methodologies to estimate energy use in vehicles: Application to battery electric vehicles. *Energy Conversion and Management*, 124, 116–129.
- Amin, A., Altinoz, B. & Dogan, E. (2020). Analyzing the determinants of carbon emissions from transportation in European countries: The role of renewable energy and urbanization. *Clean Technology and Environmental Policy*, 22, 1725–1734.
- Bi, J., Wang, Y. & Shao, S. (2018). Residual range estimation for battery electric vehicle based on radial basis function neural network. *Measurement*, 128, 197–203.

- Bolovinou, A., Bakas, I. and Amditis, A.(2014). Online prediction of an electric vehicle remaining range based on regression analysis. In: 2014 IEEE International Electric Vehicle Conference (IEVC), pp. 1–8. IEEE.
- Chen, Y., Wu, G. & Sun, R. (2020). A Review and Outlook of Energy Consumption Estimation Models for Electric Vehicles. *ArXiv Preprint ArXiv200312873*.
- De Cauwer, C., Van Mierlo, J. & Coosemans, T. (2015). Energy consumption prediction for electric vehicles based on real-world data. *Energies*, 8, 8573–8593.
- Felipe, J., Amarillo, J. C. & Naranjo, J. E. (2015). Energy consumption estimation in electric vehicles considering driving style. In: 2015 IEEE 18th International Conference on Intelligent Transportation Systems, pp. 101–106. IEEE.
- Hertzke, P., Müller, N. & Schenk, S.(2018). The global electric-vehicle market is amped up and on the rise. *McKinsey Center for Future Mobility*, 1–8.
- Hong, J., Park, S. & Chang, N. (2016). Accurate remaining range estimation for electric vehicles. In: 2016 21st Asia and South Pacific Design Automation Conference (ASP-DAC), pp. 781–786. IEEE.
- Hughes, S., Moreno, S. & Yushimito, W. F. (2019). Evaluation of machine learning methodologies to predict stop delivery times from GPS data. *Transportation Research Part C: Emerging Technologies*, 109, 289–304.
- Koubaa, R., Yoldas, Y. & Goren, S. (2020). Implementation of cost-benefit analysis of vehicle to grid coupled real Micro-Grid by considering battery energy wear: Practical study case. *Energy & Environment*, 0958305X20965158.
- Li, P., Zhang, Y. & Zhang, Y. (2021). Prediction of electric bus energy consumption with stochastic speed profile generation modelling and data-driven method based on real-world big data. *Applied Energy*, 298, 117204.
- Liu, K., Wang, J., Yamamoto, T., et al. (2016). Modelling the multilevel structure and mixed effects of the factors influencing the energy consumption of electric vehicles. *Applied Energy*, 183, 1351–1360.
- Liu, K., Yamamoto, T. & Morikawa, T. (2017). Impact of road gradient on energy consumption of electric vehicles. *Transportation Research Part D: Transport and Environment*, 54, 74–81.
- López, F. C., and Fernández, R. Á. (2020). Predictive model for energy consumption of battery electric vehicle with consideration of self-uncertainty route factors. *Journal of Cleaner Production*, 276, 124188.
- Modi, S., Bhattacharya, J. & Basak, P. (2020). Estimation of energy consumption of electric vehicles using Deep Convolutional Neural Network to reduce driver's range anxiety. *ISA Transactions*, 98, 454–470.
- Paçal, İ. (2024). MaxCerVixT: A novel lightweight vision transformer-based Approach for precise cervical cancer detection, *Knowledge-Based Systems*, 289, 111482.
- Paçal, İ. (2023). Göğüs röntgeni görüntülerinden otomatik covid-19 teşhisi için görü transformatörüne dayalı bir yaklaşım. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 13, 2, 778–791.
- Ullah, I., Liu, K. Yamamoto, T. Al Mamlook, R. E. & Jamal, A. (2022). A comparative performance of machine learning algorithm to predict electric vehicles energy consumption: A path towards sustainability. *Energy & Environment*, 33 (8), 1583-1612.
- Vita, V., & Koumides, P. (2019). Electric vehicles and distribution networks: Analysis on vehicle to grid and renewable energy sources integration. In: 2019 11th Electrical Engineering Faculty Conference (BulEF), pp. 1–4. IEEE.
- Wang, J., Liu, K. & Yamamoto, T. (2017). Improving electricity consumption estimation for electric vehicles based on sparse GPS observations. *Energies*, 10, 129.
- Xu, G., Wang, S. & Li, J. (2020). Moving towards sustainable purchase behavior: Examining the determinants of consumers' intentions to adopt electric vehicles. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–12.

Atf İçin: Durgun, Y. ve Durgun, M. (2024). Kenar Hesaplama Tabanlı, Mikrodenetleyici Entegreli, Çok Amaçlı Ve Düşük Maliyetli Modül Geliştirilmesi: Bakteriye Koloni Sayımı Örneği. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 531-543.

To Cite: Durgun, Y. & Durgun, M. (2024). Development of an Edge-Computing-Based, Microcontroller-Integrated, Multi-Purpose, and Low-Cost Module: A Bacterial Colony Counting Case Study. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 531-543.

Kenar Hesaplama Tabanlı, Mikrodenetleyici Entegreli, Çok Amaçlı ve Düşük Maliyetli Modül Geliştirilmesi: Bakteriye Koloni Sayımı Örneği

Yeliz DURGUN^{1*}, Mahmut DURGUN²

Öne Çıkanlar:

- Düşük maliyetli ve enerji tasarruflu bir kenar hesaplama tabanlı modül
- Mikrodenetleyici entegrasyonu sayesinde donanım ve yazılım maliyetlerini azaltırken kullanıcı dostu bir deneyim
- Bakteriye koloni sayımı örneği ile temel uygulama alanında başarılı sonuçlar elde eden modül

Anahtar Kelimeler:

- Arduino Nano 33 BLE
- Bakteriye koloni sayımı
- Görüntü işleme
- Mikrodenetleyici entegrasyonu

ÖZET:

Bu çalışma, bakteriye koloni sayımı ve sınıflandırması için edge-computing temelli, düşük maliyetli ve çok amaçlı bir modül geliştirmeyi amaçlamaktadır. Geleneksel koloni sayım yöntemleri zaman alıcı ve hata payı yüksek olduğundan, özellikle düşük yoğunluklu örneklerde doğruluk ve hassasiyet kaybına yol açar. Bu nedenle, mikrodenetleyici entegrasyonlu ve yapay zeka destekli bir sistem geliştirilmiştir. Çalışmada, Arduino Nano 33 BLE mikrodenetleyici ve 0.3MP OV7675 kamera modülü kullanılmıştır. Görüntü işleme süreçleri, bakteriye kolonilerin segmentasyonu ve morfolojik işlemlerle daha iyi tanımlanması için Gaussian Blur ile Adaptif eşikleme teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolonilerin etiketlenmesi ve özellik çıkarımı için, alan, çevre ve yoğunluk gibi özellikler analiz edilmiştir. Bakteriye koloni sayımı ve sınıflandırma işlemleri için Convolutional Neural Networks (CNN) ve Support Vector Machines (SVM) gibi iki farklı yapay zeka algoritması bir arada kullanılmıştır. CNN, görüntülerin doğrudan işlenmesi ve özellik çıkarımı için derin öğrenme tabanlı bir yöntemken, SVM çıkarılan özelliklere dayalı olarak sınıflandırma gerçekleştiren bir makine öğrenimi algoritmasıdır. Bu iki algoritmanın kombinasyonu, bakteriye koloni analizinde kolaylık sağlamıştır. Geliştirilen sistem, bakteri kolonisi sayılarını ve büyüme hızını zamanla izlemeye olanak tanımaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, bakteriye koloni sayımı ve sınıflandırma süreçlerinde daha hızlı ve izlenebilir sonuçlar elde etmek için mikrodenetleyici entegrasyonlu ve yapay zeka destekli bir sistemin önemini vurgulamaktadır.

Development of an Edge-Computing-Based, Microcontroller-Integrated, Multi-Purpose, and Low-Cost Module: A Bacterial Colony Counting Case Study

Highlights:

- A low-cost and energy-efficient edge-computing-based module
- User-friendly experience while reducing hardware and software costs through microcontroller integration.
- Module achieving successful results in the primary application area of bacterial colony counting

Keywords:

- Arduino Nano 33 BLE
- Colony counting
- Image processing
- Bacterial Analysis

ABSTRACT:

This study aims to develop a low-cost, multi-purpose module based on edge computing for bacterial colony counting and classification. Due to the time-consuming and error-prone nature of traditional methods, this new system has been developed with microcontroller integration and artificial intelligence support. The system utilizes the Arduino Nano 33 BLE microcontroller and a 0.3MP OV7675 camera module, employing Gaussian Blur and Adaptive Thresholding techniques for image processing to better define bacterial colonies. The labeling and feature extraction of colonies involve analyzing characteristics such as area, perimeter, and density. Convolutional Neural Networks and Support Vector Machines have been used for bacterial colony counting and classification. The combination of these two algorithms has facilitated colony analysis. The developed system enables tracking of colony numbers and growth rates over time, emphasizing the importance of a microcontroller-integrated and AI-supported system in achieving fast and traceable results in bacterial colony counting and classification.

¹Yeliz DURGUN ([Orcid ID: 0000-0003-3834-5533](https://orcid.org/0000-0003-3834-5533)), Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Turhal Meslek Yüksekokulu, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Tokat, Türkiye

²Mahmut DURGUN ([Orcid ID: 0000-0002-5010-687X](https://orcid.org/0000-0002-5010-687X)), Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Turhal Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Elektronik Ticaret ve Yönetim Bölümü, Tokat, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Yeliz DURGUN, e-mail: yeliz.durgun@gop.edu.tr

GİRİŞ

Bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırması, mikrobiyoloji ve biyoteknoloji alanlarında önemli bir araştırma konusudur (Yoon ve ark., 2015; Aneja, 2007). Bu süreç, çevre analizi, sağlık kontrolü, endüstriyel üretim, gıda güvenliği ve klinik tanı gibi birçok uygulamada yer almaktadır (Ferrari ve ark., 2015; Pacal 2022). Koloni sayımı ve sınıflandırması, bakteriyel büyüme oranlarını ve etkilerini anlamak için kullanılmaktadır. Bu bilgiler, hastalıkların teşhisi ve tedavisi, hijyen kontrolü ve gıda güvenliği gibi alanlarda önemlidir (Yerlikaya ve ark., 2022). Dolayısıyla, hızlı ve doğru bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma yöntemleri geliştirmek, bu alanlarda etkin kararlar alabilmek için kritik öneme sahiptir. Geleneksel koloni sayım yöntemleri, genellikle petri kutularında mikroorganizmaların yetişmesine, belirli bir sıcaklıkta belirli bir süre tutulması sonrasında ve ardından manuel olarak sayılmasına dayanmaktadır (Yerlikaya, 2022; Şen ve ark., 2021). Bu yöntemler, zaman alıcı ve hata payı yüksek olup, özellikle düşük yoğunluklu örneklerde doğruluk ve hassasiyet kaybına yol açmıştır. Bu nedenle, otomatik ve doğru koloni sayımı ve sınıflandırma yöntemleri geliştirmek büyük önem arz etmektedir.

Son yıllarda, görüntü işleme ve yapay zeka teknikleri, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma alanında önemli gelişmelere yol açmıştır. Özellikle, derin öğrenme ve makine öğrenimi algoritmaları, büyük miktarda verinin analiz edilerek koloni sayımı ve sınıflandırma süreçlerinin otomatikleştirilmesine olanak tanımıştır (Rani ve ark., 2022; Albaradei ve ark., 2020). Ayrıca, geliştirilen yöntemler, Petri kutusu görüntülerinin ön işleme ve segmentasyonu gibi adımları içeren geleneksel işlemleri otomatikleştirmeye yönelik olmuştur (Ferrari ve ark., 2017; Michal ve ark., 2022).

Önceki çalışmalarda, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma alanında derin öğrenme yöntemlerinin kullanılmasıyla önemli başarılar elde edildiği gösterilmiştir. Özellikle, Evrişimsel Sinir Ağları (CNN) ve Destek Vektör Makineleri (SVM) gibi sınıflandırma algoritmaları, bu tür problemler için iyi sonuçlar vermiştir (Petersson ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2021; Pacal, 2023) Bu çalışmalar, görüntü işleme ve derin öğrenme tekniklerine dayalı yöntemlerin, manuel yöntemlerden daha hızlı ve doğru sonuçlar sağlayabileceğini göstermiştir (Jin ve ark., 2021; Choudhry, 2016).

Bu çalışma, önceki çalışmalarla bağlantı kurarak, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma süreçlerini geliştirmeyi hedeflemektedir. Çalışmanın temel amacı, CNN ve SVM gibi iki farklı yapay zeka algoritmasını kullanarak, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırması için etkin ve uygun maliyetli bir çözüm sunmaktır. Bu iki algoritma, çıkarılan özelliklere göre kolonileri sınıflandırmak ve saymak amacıyla bir arada kullanılmıştır. CNN, görüntülerin doğrudan işlenmesi ve özellik çıkarımı için derin öğrenme tabanlı bir yöntemdir. SVM ise, çıkarılan özelliklere dayalı olarak sınıflandırma gerçekleştiren bir makine öğrenimi algoritmasıdır (Varshni ve ark., 2019).

Çalışmanın diğer çalışmalardan farkı, CNN ve SVM algoritmalarının kombinasyonunun, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma süreçlerinde daha güçlü ve hassas sonuçlar elde etmeyi sağlamasıdır. Özellikle, CNN'nin otomatik özellik çıkarımı yeteneği ve SVM'nin sınıflandırma performansı, birlikte çalıştığında, bakteriyel koloni analizinde kolaylık sağlamaktadır.

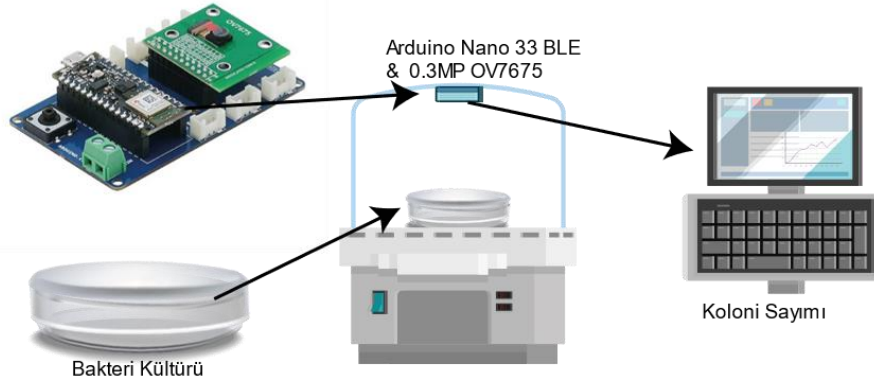
Bu çalışma, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma alanında teorik ve uygulamalı yansımaları ile önemli bir katkı sağlamaktadır. Teorik olarak, CNN ve SVM algoritmalarının kombinasyonunun etkinliğini inceleyerek, bu alandaki mevcut bilgi birikimine katkıda bulunmaktadır. Uygulamalı olarak, bu çalışma, mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılabilecek hızlı, doğru ve uygun maliyetli bir bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma yöntemi sunmaktadır. Derin öğrenme ve makine öğrenimi algoritmalarının bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma problemlerine uygulanması, bu alandaki teknik gelişmelere katkı sağlamıştır (Qu ve ark., 2019; Signoroni ve ark., 2019). Görüntü işleme ve

segmentasyon yöntemlerinin geliştirilmesi, otomatik koloni sayımı ve sınıflandırma süreçlerinde önemli adımlar atmıştır (Chen ve Zhang, 2009; Zhang ve ark., 2022). Çeşitli sınıflandırma algoritmalarının (CNN, SVM vb.) bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma problemlerine uygulanması, bu alanda farklı yöntemlerin avantajlarını ve dezavantajlarını anlamaya yardımcı olmuştur (Zhang ve ark., 2022; Mahmud ve ark., 2018). Derin öğrenme tabanlı yöntemlerin başarıları ve gelişmeleri, manuel yöntemlere kıyasla daha hızlı ve doğru sonuçlar elde etme potansiyelini göstermiştir (Zhang ve ark., 2021; Melanthota ve ark., 2022). Bu çalışma, önceki çalışmalardan elde edilen bilgi ve deneyimleri kullanarak, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma alanında daha iyi sonuçlar elde etmeyi amaçlamaktadır. Özellikle, CNN ve SVM algoritmalarının kombinasyonu sağlayarak, bu alanda önemli bir ilerleme kaydedebileceğini öngörmüştür.

Çalışma, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma alanında önemli bir araştırma konusunu ele alarak, bu alandaki bilgi birikimine ve uygulamalara katkı sağlaması hedeflenmektedir. Önceki çalışmaların önemli bulgularını ve deneyimlerini kullanarak, bu çalışma, daha hızlı, doğru ve uygun maliyetli bir bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma yöntemini sunmaktadır. Bu yöntem, mikrobiyoloji laboratuvarları, endüstri ve sağlık sektöründe, daha etkin ve güvenilir sonuçlar elde etmeye yardımcı olacaktır.

MATERYAL VE METOT

Bu bölümde, çalışmada kullanılan temel materyaller ve metotlar ele alınmaktadır. Öncelikle, mikrodenetleyici olarak Arduino Nano 33 BLE kullanılmıştır. Bu mikrodenetleyici, kamera modülüne sahip olup, makine öğrenme algoritmalarını da entegre edebilme özelliği ile dikkat çekmektedir (Şekil 1). Şekil 1'de Arduino Nano 33 BLE ve kamera modülü görülmektedir.



Şekil 1. Deney düzeneği

Mikrodenetleyici: Arduino Nano 33 BLE

Çalışmada kullanılan mikrodenetleyici olarak Arduino Nano 33 BLE tercih edilmiştir. Bu mikrodenetleyici, düşük enerji tüketimi, yüksek işlem gücü ve genişletilebilirlik özellikleri ile ön plana çıkmaktadır. Ayrıca, Arduino Nano 33 BLE, TensorFlow Lite Micro desteği ile makine öğrenme algoritmalarını entegre etme imkanı sunmaktadır (Durgun, 2024). Bu özellikler, bakteriyel koloni sayımı ve endüstriyel ürün sayma gibi uygulamalar için etkin ve maliyet-etkin çözümler geliştirilmesini sağlamaktadır.

Kamera modülü

Bu çalışmada kullanılan kamera modülü, OV7675 çipi ile donatılmış 0.3MP bir kameradır ve istikrarlı çalışma performansı ile net görüntüleme sağlamaktadır. Kamera modülü, 50 derecelik bozulma olmaksızın geniş bir görüş alanı sunarak kullanıcıya geniş görsel aralık ve görüntüleme imkanı sağlamaktadır. Bu kamera modülü, esas olarak modifikasyon için kullanılırken, reklam

makinesi, yüz tanıma, drone fotoğrafçılığı gibi alanlarda da kullanılabilir. Özellikle tasarımı, 30FPS hızı, 640 x 480 maksimum çözünürlük ve YUV formatına uygun olacak şekilde optimize edilmiştir. Arduino Nano 33 BLE ile entegre edilen bu kamera modülü, projemiz için başarılı bir şekilde bakteriyel koloni sayımı gerçekleştirmeye olanak tanımaktadır. Kamera ile elde edilen veriler, makine öğrenme algoritmalarının eğitimi ve testi için kullanılmıştır.

Değişkenler

Çalışmada kullanılan değişkenler şunlardır:

- Bakteriyel koloni sayısı
- Zaman
- Kamera modülünün çözünürlüğü
- Makine öğrenme algoritmasının performansı

Bu değişkenler, çalışmanın sonuçlarının değerlendirilmesinde ve modülün optimizasyonunda önemli rol oynamaktadır.

Manipülasyon ve gözlem süreçleri

Bakteriyel koloni sayımı

Bakteriyel koloni sayımı sürecinde, kamera modülü kullanılarak bakteriyel kolonilerin görüntüleri alınmıştır. Bu görüntüler, makine öğrenme algoritmasının eğitimi ve testi için kullanılmıştır. Ayrıca, zaman değişkeni dikkate alınarak, bakteriyel kolonilerin zamana bağlı değişimlerinin analizi gerçekleştirilmiştir.

Veri analizi

Çalışmamızda kullanılan veri seti, toplamda 112 adet görüntüden oluşmaktadır. Bu görüntülerin her biri 320x240 piksel boyutlarındadır ve çeşitli bakteriyel koloni türlerini ve yoğunluklarını içermektedir. Veri setinin 88'i eğitim seti için, geriye kalan 24'ü ise test seti olarak ayrılmıştır. Bu ayırım, modelin genelleştirme kabiliyetini değerlendirmek ve gerçek dünya koşullarında nasıl performans göstereceğini test etmek için önemlidir.

Eğitim seti, modelin öğrenme sürecinde kullanılmış ve bakteriyel kolonilerin çeşitli özelliklerini tanıması için gereken bilgileri sağlamıştır. Test seti ise, eğitim sürecinden bağımsız olarak modelin doğruluğunu ve güvenilirliğini değerlendirmek için kullanılmıştır.

Ön işleme

Gürültüyü azaltmak ve görüntü kontrastını iyileştirmek için filtreleme teknikleri uygulanabilmektedir. Düzleştirme filtresi görüntü ön işlemede kullanılan yaygın filtreleme tekniğidir. Bu tekniğin bakteriyel koloni sayımı için ön işleme aşamasında kullanılması, görüntüdeki gürültüyü azaltırken detayları korumaya yardımcı olmuştur. Düzleştirme filtresi: Görüntü üzerindeki gürültüyü azaltmak için kullanılan bir düşük geçiren filtredir. Bu yöntem, görüntüdeki her pikselin değerini, çevresindeki piksellerin değerleriyle ağırlıklı bir ortalamaya göre düzenlenmektedir. Düzleştirme filtresi, bakteriyel koloni sayımı için ön işleme aşamasında kullanılmıştır. Gürültüyü azaltarak kolonilerin daha iyi tanımlanmasına ve segmentasyonun daha doğru gerçekleştirilmesine yardımcı olmuştur. Bu filtreleme tekniğini kullanarak, bakteriyel koloni sayımı ve değişiminin izlenmesi için gerekli görüntü ön işlemini gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, kolonilerin daha iyi tanımlanması ve segmentasyonun daha doğru gerçekleştirilmesi sağlanmıştır, böylece koloni sayımı ve değişiminin izlenmesi daha hızlı ve güvenilir sonuçlar sunmuştur.

Görüntü ayrıştırma: bakteriyel kolonilerin arka plandan ayrılması

Bakteriyel koloni sayımında, kolonilerin arka plandan doğru bir şekilde ayırt edilmesi önemli bir adımdır. Bu çalışmada, arka planın ve bakteriyel kolonilerin etkili bir şekilde ayrılması için adaptif eşikleme yöntemi kullanılmıştır (Yoon ve ark., 2015; Zhang ve ark.2021). Adaptif eşikleme: Bu yöntem, görüntüdeki her piksel için özelleştirilmiş bir eşik değeri belirler ve bu değere göre piksellerin beyaz veya siyah olarak sınıflandırılmasını sağlar. Global eşikleme yöntemlerinden farklı olarak, adaptif eşikleme, yerel görüntü özelliklerini dikkate alarak daha iyi sonuçlar sunmaktadır. Bu sayede, aydınlık ve koyu bölgelerdeki farklı özelliklerin dikkate alınması ile daha doğru ve etkili bir segmentasyon elde edilmektedir (Zhang ve ark.2022). Bu çalışmada, adaptif eşikleme yöntemi ile bakteriyel kolonilerin arka plandan ayrılması sağlanmıştır. Öncelikle, görüntüdeki gürültüyü azaltmak için Gaussian Bulanıklığı tekniği kullanılarak görüntü ön işleme gerçekleştirilmiştir. Ardından, adaptif eşikleme yöntemi uygulanarak kolonilerin arka plandan ayrılması sağlanmıştır. Bu işlem sonucunda, bakteriyel koloniler net ve düzgün bir şekilde belirlenmiş ve sayım için hazır hale getirilmiştir.

Morfolojik işlemler: kolonilerin iyileştirilmesi ve yanlış pozitiflerin azaltılması

Morfolojik işlemler, görüntü işleme alanında kullanılan temel işlemlerden biridir ve yapısal özelliklerin iyileştirilmesi veya dikkate değer özelliklerin vurgulanması için kullanılmaktadır. Bu çalışmada, segmentasyon işlemi sonrasında bakteriyel kolonilerin daha iyi tanımlanması ve yanlış pozitiflerin azaltılması amacıyla erozyon morfolojik işlemi kullanılmıştır. Erozyon işlemi, görüntüdeki nesnelerin sınırlarını incelterek arka plana daha yakın hale getirir ve küçük nesnelere ortadan kaldırır. Bu sayede, arka plan ve koloni arasındaki sınırlar daha net hale gelir ve yanlış pozitiflerin etkisi azaltılır. Bu çalışmada, morfolojik işlemler ile bakteriyel kolonilerin sınırları daha iyi tanımlanmış ve yanlış pozitiflerin etkisi azaltılmıştır. Bu süreç, koloni sayımının doğruluğunu artırmakta ve sonuçların güvenilirliğini sağlamaktadır.

Etiketleme ve özellik çıkarımı: kolonilerin karakteristiklerinin belirlenmesi

Bu projede, bakteriyel kolonilerin özelliklerini belirlemek ve analiz etmek için etiketleme ve özellik çıkarımı işlemleri kullanılmıştır. Öncelikle, morfolojik işlemlerle iyileştirilmiş görüntülerdeki tüm koloniler etiketlenmiştir. Bu işlem, bağlı bileşenlerin analizi (Connected Component Analysis-CCA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CCA, görüntüdeki bağlı piksel gruplarını tanımlayarak nesnelere etiketlemeye ve ayırmaya olanak tanır. Etiketleme işlemi tamamlandıktan sonra, her bir koloni için çeşitli özellikler çıkarılmıştır. Bu özellikler arasında koloni alanı, çevre ve yoğunluk gibi temel özellikler yer almaktadır. Ayrıca, şekil faktörleri gibi daha karmaşık özellikler de hesaplanarak kolonilerin morfolojik farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Özellik çıkarımı, her bir koloni hakkında detaylı bilgi sağlayarak, daha kesin ve doğru koloni sayımı ve sınıflandırması yapılmasına olanak tanır. Bu sayede, bakteriyel koloni sayımı ve değişiminin izlenmesi süreci daha güvenilir ve başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

CNN mimarisi:

Bu çalışmada, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırması için kullanılan CNN mimarisi, özelleştirilmiş bir Evrişimsel Sinir Ağları yapılandırmasıdır. Seçilen CNN mimarisi, özellikle mikroskopik görüntülerin karmaşıklığını ve çeşitliliğini işleyebilecek biçimde tasarlanmıştır. Mimarimiz, birden fazla evrişim katmanı, aktivasyon fonksiyonları, havuzlama katmanları ve tam bağlı katmanlardan oluşur. Her evrişim katmanı, görüntünün farklı özelliklerini (örneğin, kenarlar, doku, şekiller) algılamak üzere tasarlanmıştır. Aktivasyon fonksiyonu olarak ReLU (Rectified Linear Unit) kullanılmıştır, bu da modelin doğrusal olmayan problemleri daha iyi çözmesini sağlamaktadır.

Bu çalışmada, özelleştirilmiş bir Konvolüsyonel Sinir Ağı (CNN) mimarisi kullanılmıştır. Mimari, dört ana konvolüsyonel katmandan oluşur. Bu katmanların her biri, farklı düzeylerde özellik çıkarımı için tasarlanmıştır.

1. Katman: İlk katman, 16 filtre içerir. Bu katman, giriş görüntülerinden temel özellikleri (kenarlar, köşeler vb.) çıkarmak için kullanılır. Bu temel özellikler, sonraki katmanlarda daha karmaşık özelliklere dönüştürülür.

2. Katman: İkinci katman, 32 filtre içerir. Bu katman, birinci katmandan elde edilen temel özellikler üzerine kurulur ve daha karmaşık özelliklerin (doku, şekiller vb.) çıkarımını gerçekleştirir.

3. Katman: Üçüncü katman yine 16 filtreye sahiptir. Bu aşama, özelliklerin daha da rafine edilmesini sağlar, böylece modelin bakteriyel kolonileri daha iyi tanımasına olanak tanır.

4. Katman: Son katman 8 filtreye sahiptir ve bu, özellik çıkarımının son aşamasıdır. Bu katmanda, önceki katmanlardan gelen özellikler, sınıflandırma için gerekli olan son özellik setine dönüştürülür.

Bu özelleştirilmiş CNN mimarisi, görüntülerden önemli özellikleri çıkarmak ve bu özellikleri SVM algoritmasına beslemek için tasarlanmıştır. Geliştirilen bu mimari, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma gibi spesifik görevler için optimize edilmiştir.

Yapay zeka algoritması: bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma için algoritma kombinasyonları

Bu çalışmada, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma işlemleri için CNN ve SVM gibi iki farklı yapay zeka algoritması kullanılmıştır. CNN, görüntülerin doğrudan işlenmesi ve özellik çıkarımı için derin öğrenme tabanlı bir yöntemdir ve bu çalışmada, bakteriyel kolonilerin görüntülerinden özellikler öğrenmek ve kolonilerin farklı sınıflarını ayırt etmek için kullanılmıştır. Öğrenilen bu özellikler daha sonra SVM algoritmasına beslenmiştir. SVM, çıkarılan özelliklere dayalı olarak sınıflandırma gerçekleştiren bir makine öğrenimi algoritmasıdır ve bu çalışmada, CNN tarafından öğrenilen özellikler kullanılarak bakteriyel kolonileri doğru bir şekilde sınıflandırmak ve saymak için eğitilmiştir.

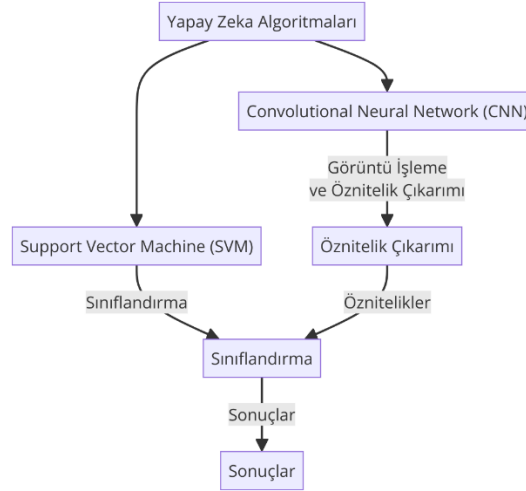
Bu iki algoritmanın kombinasyonu, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırma süreçlerinde daha güçlü ve hassas sonuçlar elde etmeyi sağlamıştır. Özellikle, CNN'nin otomatik özellik çıkarımı yeteneği ve SVM'nin sınıflandırma performansı birleştirildiğinde, bakteriyel koloni analizinde hem hız hem de izlenebilirlik artmaktadır. Ayrıca, bu hibrid modelin performansı, yalnızca CNN veya yalnızca SVM kullanılarak elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında, CNN'nin derin öğrenme tabanlı özellik çıkarımı ve SVM'nin etkili sınıflandırma kabiliyetinin birleşimi, daha doğru sonuçlar ve daha az yanlış pozitif oranı sunmaktadır. Bu modelin avantajları, derin öğrenmenin gücünü ve makine öğreniminin hassasiyetini birleştirmesidir, ancak dezavantaj olarak daha karmaşık bir yapı ve potansiyel olarak daha uzun eğitim süreleri gösterilebilir.

CNN (Evrışimsel Sinir Ağları) ve SVM (Destek Vektör Makineleri), yapay zeka ve makine öğrenimi alanında sıkça kullanılan iki farklı modeldir ve her biri belirli avantajlara sahiptir. Bunların kombinasyonu olan hibrid model, her iki yöntemin avantajlarını birleştirerek daha güçlü ve etkili bir çözüm sunar.

CNN, görüntü işleme ve analizi konusunda özellikle etkilidir. Evrışimsel katmanlar sayesinde, görüntülerden yüksek düzeyde özellikler çıkarabilir. Bu özellikler, görüntünün temel bileşenlerini (kenarlar, doku, şekiller vb.) temsil eder ve karmaşık görsel verilerin anlaşılmasını sağlar. CNN'ler, özellikle görüntü tanıma, sınıflandırma ve segmentasyon gibi görevlerde başarılıdır. Ancak, CNN

tabanlı sistemler bazen sınıflandırma aşamasında yetersiz kalabilir veya overfitting (aşırı uyum) gibi sorunlarla karşılaşabilir.

Diğer yandan, SVM, özellikle sınıflandırma görevlerinde güçlüdür. Verilen özellik setini kullanarak, farklı sınıflar arasında en iyi ayrımı yapacak hiperdüzlemi bulmaya çalışır. SVM, özellikle yüksek boyutlu verilerde ve veri noktaları arasındaki sınırların belirsiz olduğu durumlarda etkilidir. Ancak SVM, doğrudan görüntü işleme veya özellik çıkarımında kullanılmaz; bunun yerine, önceden tanımlanmış özellik setlerine dayanarak çalışmaktadır.



Şekil 2. Yapay zeka algoritmaları kombinasyonu şeması

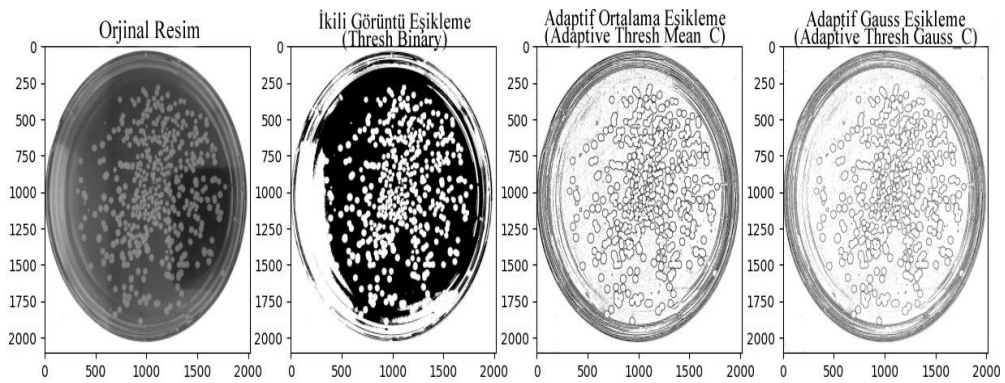
Şekil 2, çalışmamızda kullanılan yapay zeka algoritmaları CNN (Convolutional Neural Network) ve SVM (Support Vector Machine)'nin entegre edilmesini göstermektedir. Bu diyagram, CNN'nin görüntü işleme ve özellik çıkarımı sürecinde nasıl kullanıldığını ve çıkarılan bu özelliklerin SVM tarafından nasıl sınıflandırıldığını açıkça göstermektedir. Bu entegrasyon, bakteriyel koloni sayımı ve sınıflandırmasında daha etkili ve hızlı sonuçlar elde etmemizi sağlamaktadır. Şekilde, her bir adımın akışı ve algoritmaların birbiriyle nasıl etkileşime girdiği detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Hibrid modelde, CNN'nin güçlü özellik çıkarım kabiliyeti ve SVM'nin etkili sınıflandırma performansı birleştirilir. Bu yaklaşımda, CNN öncelikle görüntülerden özellikleri çıkarır ve bu özellikler daha sonra SVM tarafından sınıflandırılır. Bu kombinasyon, CNN'nin bazen karşılaştığı sınıflandırma zorluklarını aşmada ve SVM'nin özellik çıkarımındaki eksikliklerini gidermede etkili olmaktadır. Sonuç olarak, hibrid model, her iki tekniğin tek başına kullanılmasına göre daha hassas ve güvenilir sonuçlar sunar ve karmaşık sınıflandırma görevlerinde daha iyi performans gösterir. Bu yaklaşım, özellikle bakteriyel koloni sayımı gibi karmaşık ve hassas görevler için idealdir, çünkü hem yüksek seviyede özellik çıkarımı hem de etkili sınıflandırma sağlamaktadır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

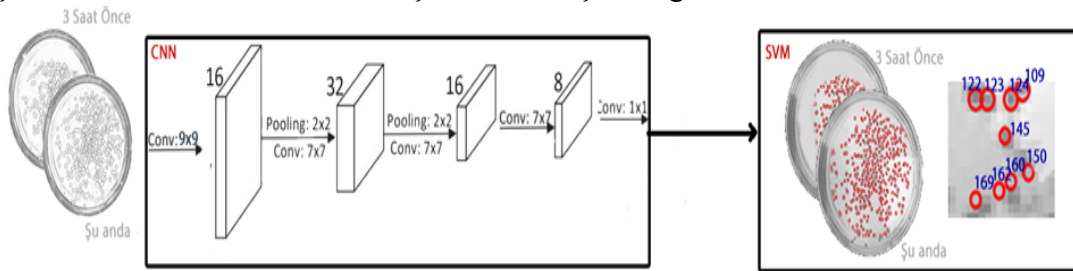
Bu çalışma, kenar hesaplama tabanlı, mikrodnetleyici entegreli, çok amaçlı ve düşük maliyetli bir modülün geliştirilmesini amaçlamaktadır. Bakteriyel koloni sayımı, bu modülün temel uygulama alanı olarak örnek teşkil etmektedir. Çalışmada hem geleneksel yöntemlerin zorluklarını gidermek hem de daha doğru ve hızlı sonuçlar elde etmek adına, görüntü işleme ve yapay zeka algoritmaları kullanılarak bakteriyel koloni sayımı gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen modül, özellikle biyoteknoloji, gıda güvenliği, tıbbi teşhis ve çevre analizi gibi alanlarda büyük öneme sahiptir. Endüstriyel ürün sayma gibi alternatif uygulama alanlarında da kullanılması mümkün olacaktır. Kenar hesaplama prensipleri kullanılarak gerçek zamanlı analiz ve sayım imkanı sunulmuştur. Mikrodnetleyici

entegrasyonu ile donanım ve yazılım maliyetlerinin düşürülmesi sağlanırken, kullanıcı dostu bir deneyim sunulmaktadır. Çalışma sonuçlarında, Gaussian Bulanıklığı filtre uygulanarak görüntü gürültüsünün azaltılması, ardından Adaptif eşikleme yöntemi ile görüntü ayrıştırmanın başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği görülmüştür. Morfolojik işlemler ile kolonilerin daha iyi tanımlanması ve yanlış pozitiflerin azaltılması sağlanmıştır. Etiketleme ve özellik çıkarımı ile kolonilerin karakteristiklerini belirlemeye yönelik önemli bilgiler elde edilmiştir. Bu veriler üzerinden CNN ve SVM algoritmalarının kombinasyonu kullanılarak yüksek doğruluk ve güvenilirlik sağlanmıştır. Bulgular, geliştirilen modülün başarılı bir şekilde bakteriyel koloni sayımı yapabildiğini ve düşük maliyetli, enerji tasarruflu ve kullanıcı dostu bir çözüm sunabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, bu modülün geniş çapta uygulanmasının, ilgili alanlarda önemli bir katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.



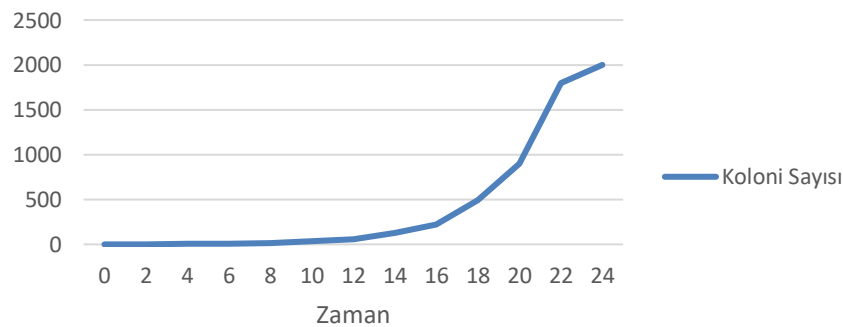
Şekil 3. Görüntü İşleme Adımlarını Gösteren Bir Akış Şeması

Şekil 3'de, Gaussian Bulanıklığı filtre uygulaması, adaptif eşikleme ile segmentasyon, morfolojik işlemler ve etiketleme ve özellik çıkarımı süreçlerini görsel olarak temsil etmektedir.



Şekil 4. Yapay zeka algoritmalarının (CNN ve SVM) kombinasyonunun şeması

Şekil 4'de, algoritma kombinasyonlarının koloni sayımı ve sınıflandırmada birlikte kullanım şekli gösterilmektedir



Şekil 5. Geliştirilen modülün başarılı koloni sayımı sonuçlarını gösteren örnek bir görüntü

Şekil 5’de görüntü, önceden belirlenmiş özelliklere göre kolonilerin sınıflandırılmasını ve sayılmasını görsel olarak temsil etmektedir. Sonuç olarak, geliştirilen kenar hesaplama tabanlı modül, bakteriyel koloni sayımı ve diğer benzer uygulamalar için etkili ve düşük maliyetli bir çözüm sunmaktadır. Çalışmamızda geliştirilen kenar hesaplama tabanlı modül, bakteriyel koloni sayımı ve benzer uygulamalar için etkili ve düşük maliyetli bir çözüm sunmaktadır. Maliyet analizine göre, modülümüzde kullanılan Arduino Nano 33 BLE mikrodenetleyicinin maliyeti yaklaşık €22,80, OV7675 kamera modülünün maliyeti €20 ve ek plastik aparatların maliyeti ise €10 olarak hesaplanmıştır. Bu toplam maliyet, ülkemizde yaygın olarak kullanılan ve fiyatı yaklaşık €250 olan düşük fiyatlı koloni sayımı için kullanılan ışık ünitelerine kıyasla oldukça ekonomiktir. Bu maliyet farkı, geliştirdiğimiz sistemin, bakteriyel koloni sayımı alanında hem maliyet-etkin hem de yüksek performanslı bir alternatif sunduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, görüntü işleme ve yapay zeka algoritmalarının entegrasyonu, daha doğru ve hızlı sonuçlar elde etmeyi mümkün kılmaktadır (Veziroglu ve ark., 2023). Bu çalışmanın bulguları, ilgili alanlarda önemli bir katkı sağlayabilecek potansiyele işaret etmektedir. Geliştirilen modülün daha fazla uygulama alanında test edilmesi ve optimize edilmesi önemlidir. Ayrıca, daha karmaşık ve geniş veri kümesi üzerinde algoritmaların performansını değerlendirmek ve modülü daha geniş bir kullanıcı kitlesi için erişilebilir kılmak için çalışmalar yapılmalıdır. Bu tür çalışmalar, modülün kullanım alanlarını genişleterek daha fazla sektörde ve uygulamada değer oluşturmaktadır (Pacal ve Alaftekin 2023).

Tablo 1. Kenar hesaplama tabanlı bakteriyel koloni sayım yöntemleri üzerine yapılmış çalışmalar

| Yazar(lar) | Yayın Yılı | Yöntem | Sonuçlar ve Önemli Noktalar |
|-------------------------|------------|---|---|
| Zhang ve ark., 2022 | 2022 | YOLOv3 tabanlı az sayıda öğrenme Mikroakışkan cihazlar ve akıllı telefonlar | Kenar cihazlarda yüksek doğrulukla bakteriyel koloni tespiti |
| Needs ve ark., 2021 | 2021 | Görüntü analizi yazılımı | Basit ve etkili bakteriyel hücre sayımı |
| Raju ve ark., 2020 | 2020 | MATLAB tabanlı görüntü işleme | Otomatik ve hızlı koloni sayımı |
| Kis ve ark., 2019 | 2019 | Hiperspektral özellikler | Etkili ve kullanıcı dostu koloni sayımı |
| Shi ve ark., 2019 | 2019 | VCC yöntemi | Gıda kalitesi değerlendirmesi için gürültüsüz sayım |
| Hoffmann ve ark., 2018 | 2018 | Gelişmiş CNN algılama metodu | Yüksek hacimli antibakteriyel etki değerlendirmesi |
| Shousheng ve ark., 2021 | 2021 | Biyoluminesans etiketleme | Düşük hata oranıyla hassas koloni sayımı |
| Matsumoto ve ark., 2021 | 2021 | Akış sitometrisi | Bitki-bakteri etkileşimlerinde kullanım Hücrelerin antibakteriyel etkisinin hızlı değerlendirilmesi |
| Lórinéz ve ark., 2018 | 2018 | Kaskad ağ tabanlı algılama | Su içinde bakteri tespiti için küçük hedef algılama |
| Liu ve ark., 2021 | 2021 | Mikroakışkan dip-stick şeritler | Hızlı ve basit CFU ml-1 ölçümü |
| Dönmez ve ark., 2022 | 2022 | Görüntü tabanlı sayım | Escherichia coli için görüntü tabanlı sayım |
| Karatepe ve ark., 2022 | 2022 | Mask R-CNN modeli | Yüksek doğrulukta otomatik koloni sayımı |
| Naets ve ark., 2021 | 2021 | Mikroskopik tarama | Hızlı ve doğru mikro-koloni sayımı |
| Song ve ark., 2018 | 2018 | | |

Tablo 1’de, çalışmamızla ilgili olarak literatürde yer alan ve kenar hesaplama tabanlı bakteriyel koloni sayım yöntemleri üzerine yapılmış 15 farklı çalışmayı kıyaslayarak sunulmaktadır. Her bir çalışma, uygulanan yöntemler ve elde edilen sonuçlar açısından özetlenmiştir.

Çalışmada kullanılan veri seti, toplamda 112 adet görüntü içermektedir. Bu görüntülerin 88’i eğitim seti için, 24’ü ise test seti için ayrılmıştır ve her iki set de çeşitli bakteriyel koloni türlerini ve

yoğunluklarını kapsamaktadır. Her bir görüntü için bakteriyel koloniler manuel olarak sayılmış ve bu sayım sonuçları kaydedilmiştir. Aynı görüntüler, geliştirilen mikrodenetleyici tabanlı sistem kullanılarak sayılmış ve bu sayım sonuçları manuel sayım sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmada, ortalama hata oranı %4 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, önerilen hibrid modelin (CNN+SVM) manuel sayım sonuçlarına oldukça yakın performans gösterdiğini ve yüksek doğrulukta bakteriyel koloni sayımını sağladığını göstermektedir.

Tablo 2: Manuel sayım ve mikrodenetleyici ile sayım karşılaştırması örneği

| Görüntü ID | Manuel Sayım | Mikrodenetleyici ile Sayım | Ortalama Hata (%) |
|------------|--------------|----------------------------|-------------------|
| 1 | 100 | 98 | 2.0 |
| 2 | 105 | 107 | 1.9 |
| 3 | 110 | 109 | 0.9 |
| 4 | 115 | 117 | 1.7 |
| 5 | 120 | 119 | 0.8 |
| 6 | 125 | 126 | 0.8 |
| 7 | 130 | 132 | 1.5 |
| 8 | 135 | 133 | 1.5 |
| 9 | 140 | 141 | 0.7 |
| 10 | 145 | 146 | 0.7 |

Bu değerlendirmeleri görsel olarak sunmak için bir tablo hazırlanmıştır. Tablo 2’de, manuel sayım ve mikrodenetleyici tabanlı sayım sonuçları karşılaştırılmış ve her bir görüntü için hata oranları belirtilmiştir. Bu tablo, sistemin her bir görüntü üzerindeki performansını ve manuel sayım ile olan karşılaştırmasını göstermektedir. Her bir görüntü için hata oranı, sistemin tutarlılığını ve güvenilirliğini değerlendirmek için önemli bir göstergedir.

Özetle, bu çalışmada geliştirilen hibrid model, bakteriyel koloni sayımı için etkili bir yöntem sunmakta ve manuel sayım ile kıyaslandığında yüksek doğruluk oranıyla dikkat çekmektedir. Bu modelin başarısı hem alan uzmanlarına hem de otomatik sistemlerin geliştirilmesinde çalışan araştırmacılara önemli katkılar sağlayacaktır.

SONUÇ

Bu çalışma, kenar hesaplama tabanlı, mikrodenetleyici entegreli, çok amaçlı ve düşük maliyetli bir modülün geliştirilmesini amaçlamıştır. Özellikle bakteriyel koloni sayımı için kullanılan görüntü işleme ve yapay zeka algoritmaları, bu modülün temel uygulama alanı olarak örnek teşkil etmektedir. Geliştirilen modül sayesinde, bakteriyel koloni sayımı süreçleri hızlı, enerji tasarruflu ve kullanıcı dostu bir şekilde gerçekleştirilebilmiştir.

Çalışma sonucunda, kullanılan Gaussian Bulanıklığı ve Medyan Filtre ile görüntü gürültüsü azaltılmış ve Adaptif eşikleme yöntemi ile başarılı bir görüntü ayrıştırma sağlanmıştır. Morfolojik işlemler ve etiketleme yöntemleri ile bakteriyel koloniler daha iyi tanımlanmış ve özellikleri çıkarılarak karakteristik bilgiler elde edilmiştir. CNN ve SVM gibi yapay zeka algoritmalarının kombinasyonu, kolonilerin doğru bir şekilde sınıflandırılması ve sayılması için kullanılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, geliştirilen modülün bakteriyel koloni sayımında başarılı bir şekilde kullanılabilirliğini göstermiştir. Bu sayede, biyoteknoloji, gıda güvenliği, tıbbi teşhis ve çevre analizi gibi alanlarda daha hızlı ve doğru analizlerin yapılması mümkün olacaktır. Ayrıca, modülün esnek yapısı sayesinde, endüstriyel ürün sayma gibi alternatif uygulama alanlarında da kullanılabilirliği arttırılacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile geliştirilen kenar hesaplama tabanlı, mikrodenetleyici entegreli, çok amaçlı ve düşük maliyetli modül, bakteriyel koloni sayımı ve diğer uygulama alanlarında önemli bir katkı sağlayarak, mevcut süreçlerin daha verimli ve doğru şekilde gerçekleştirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir. Gelecekte bu modülün yaygınlaştırılması ile ilgili alanlarda önemli bir farkındalığın oluşması beklenebilir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder

KAYNAKLAR

- Albaradei, S. A., Napolitano, F., Uludag, M., Thafar, M., Napolitano, S., Essack, M., Bajic, V. B., & Gao, X. (2020). Automated counting of colony forming units using deep transfer learning from a model for congested scenes analysis. *IEEE Access*, 8, 164340–164346.
- Andreini, P., Bonechi, S., Bianchini, M., Mecocci, A., & Scarselli, F. (2018). A deep learning approach to bacterial colony segmentation. *Artificial Neural Networks and Machine Learning–ICANN 2018: 27th International Conference on Artificial Neural Networks, Rhodes, Greece, October 4–7, 2018, Proceedings, Part III 27*, 522–533.
- Aneja, K. R. (2007). *Experiments in microbiology, plant pathology and biotechnology*. New Age International.
- Bär, J., Boumasmoud, M., Kouyos, R. D., Zinkernagel, A. S., & Vulin, C. (2020). Efficient microbial colony growth dynamics quantification with ColTapp, an automated image analysis application. *Scientific reports*, 10(1), 16084.
- Chen, W.-B., & Zhang, C. (2009). An automated bacterial colony counting and classification system. *Information Systems Frontiers*, 11, 349–368.
- Choudhry, P. (2016). High-throughput method for automated colony and cell counting by digital image analysis based on edge detection. *PloS one*, 11(2), e0148469.
- Dönmez, S. İ., Needs, S. H., Osborn, H. M., Reis, N. M., & Edwards, A. D. (2022). Label-free 1D microfluidic dipstick counting of microbial colonies and bacteriophage plaques. *Lab on a Chip*, 22(15), 2820-2831.
- Durgun, Y. (2024). Classification of Starch Adulteration in Milk Using Spectroscopic Data and Machine Learning. *International Journal of Engineering Research and Development*, 16(1), 221-226. <https://doi.org/10.29137/umagd.1379171>
- Ferrari, A., Lombardi, S., & Signoroni, A. (2015). Bacterial colony counting by convolutional neural networks. *2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, 7458–7461.
- Ferrari, A., Lombardi, S., & Signoroni, A. (2017). Bacterial colony counting with convolutional neural networks in digital microbiology imaging. *Pattern Recognition*, 61, 629–640.
- Hoffmann, S., Walter, S., Blume, A., Fuchs, S., Schmidt, C., Scholz, A., & Gerlach, R. (2018). High-Throughput Quantification of Bacterial-Cell Interactions Using Virtual Colony Counts. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8.
- Jin, S., Zeng, X., Xia, F., Huang, W., & Liu, X. (2021). Application of deep learning methods in biological networks. *Briefings in bioinformatics*, 22(2), 1902–1917.

- Karatepe, F., Taş, B., Coskun, O., & Kahriman, M. (2022). Detection of Escherichia Coli Bacteria by Using Image Processing Techniques. *International Journal of Biology and Biomedical Engineering*.
- Kis, B., Unay, M., Ekimci, G., Ercan, U., & Akan, A. (2019). Counting Bacteria Colonies Based on Image Processing Methods. *2019 Medical Technologies Congress (TIPTEKNO)*, 1-4.
- Liu, S., Gai, Z., Zhang, M., Guo, F., Chai, X., Wang, Y., Hu, D., Wang, S., Zhang, L., Zhang, X., Chen, Z., Sun, X., & Jiang, X. (2021). Small target detection method with high accuracy for visible colony RGB image formed by bacteria in water. , 11767, 117671D - 117671D-4.
- Lőrincz, Á. M., Szeifert, V., Bartos, B., & Ligeti, E. (2018). New flow cytometry-based method for the assessment of the antibacterial effect of immune cells and subcellular particles. *Journal of Leukocyte Biology*, 103(5), 955-963.
- Mahmud, M., Kaiser, M. S., Hussain, A., & Vassanelli, S. (2018). Applications of deep learning and reinforcement learning to biological data. *IEEE transactions on neural networks and learning systems*, 29(6), 2063–2079.
- Matsumoto, A., Schlüter, T., Melkonian, K., Takeda, A., Nakagami, H., & Mine, A. (2021). A versatile Tn7 transposon-based bioluminescence tagging tool for quantitative and spatial detection of bacteria in plants. *Plant Communications*, 3.
- Marotz, J., Lübbert, C., & Eisenbeiss, W. (2001). Effective object recognition for automated counting of colonies in Petri dishes (automated colony counting). *Computer methods and programs in biomedicine*, 66(2–3), 183–198.
- Melanthota, S. K., Gopal, D., Chakrabarti, S., Kashyap, A. A., Radhakrishnan, R., & Mazumder, N. (2022). Deep learning-based image processing in optical microscopy. *Biophysical Reviews*, 14(2), 463–481.
- Michal, Č., Radim, B., & Jan, K. (2022). Machine-learning Approach to Microbial Colony Localisation. *2022 45th International Conference on Telecommunications and Signal Processing (TSP)*, 206–211.
- Naets, T., Huijsmans, M., Smyth, P., Sorber, L., & Lannoy, G. (2021). A Mask R-CNN approach to counting bacterial colony forming units in pharmaceutical development.
- Needs, S., Osborn, H., & Edwards, A. (2021). Counting bacteria in microfluidic devices: Smartphone compatible 'dip-and-test' viable cell quantitation using resazurin amplified detection in microliter capillary arrays.. *Journal of microbiological methods*, 106199 .
- Pacal, I. (2022). Deep Learning Approaches for Classification of Breast Cancer in Ultrasound (US) Images. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(4), 1917-1927.
- Pacal, I. (2023). Göğüs Röntgeni Görüntülerinden Otomatik COVID-19 Teşhisi için Görü Transformatörüne Dayalı Bir Yaklaşım. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(2), 778-791.
- Pacal, I., & Alaftekin, M. (2023). Türk İşaret Dilinin Sınıflandırılması için Derin Öğrenme Yaklaşımları. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(2), 760-777.
- Petersson, H., Gustafsson, D., & Bergstrom, D. (2016). Hyperspectral image analysis using deep learning—A review. *2016 sixth international conference on image processing theory, tools and applications (IPTA)*, 1–6.
- Qu, K., Guo, F., Liu, X., Lin, Y., & Zou, Q. (2019). Application of machine learning in microbiology. *Frontiers in microbiology*, 10, 827.

- Raju, S., Aparna, H., Krishnan, A., Naryanan, D., Gangadhran, V., & Paul, S. (2020). Automated counting of bacterial colonies by image analysis. *Journal of multidisciplinary dental research*.
- Rani, P., Kotwal, S., Manhas, J., Sharma, V., & Sharma, S. (2022). Machine learning and deep learning based computational approaches in automatic microorganisms image recognition: methodologies, challenges, and developments. *Archives of Computational Methods in Engineering*, 29(3), 1801–1837.
- Shi, J., Zhang, F., Wu, S., Guo, Z., Huang, X., Hu, X., Holmes, M., & Zou, X. (2019). Noise-free microbial colony counting method based on hyperspectral features of agar plates. *Food chemistry*, 274, 925-932 .
- Shousheng, L., Gai, Z., Xu, C., Fengxiang, G., Mei, Z., Xu, S., Yibao, W., Ding, H., Shaoyan, W., Zhang, L., Zhang, X., Chen, Z., Xiaoling, S., & Jiang, X. (2021). Bacterial colonies detecting and counting based on enhanced CNN detection method. *E3S Web of Conferences*.
- Signoroni, A., Savardi, M., Baronio, A., & Benini, S. (2019). Deep learning meets hyperspectral image analysis: A multidisciplinary review. *Journal of Imaging*, 5(5), 52.
- Song, D., Liu, H., Dong, Q., Bian, Z., Wu, H., & Lei, Y. (2018). Digital, Rapid, Accurate, and Label-Free Enumeration of Viable Microorganisms Enabled by Custom-Built On-Glass-Slide Culturing Device and Microscopic Scanning. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 18.
- Şen Arslan, H., Cabi, A., Yerlikaya, S., & Sariçoban, C. (2021). Antibacterial and antioxidant activity of peach leaf extract prepared by air and microwave drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15847.
- Varshni, D., Thakral, K., Agarwal, L., Nijhawan, R., & Mittal, A. (2019). Pneumonia detection using CNN based feature extraction. *2019 IEEE international conference on electrical, computer and communication technologies (ICECCT)*, 1–7.
- Veziroglu, E., Pacal, I., & Coşkunçay, A. (2023). Derin Evrişimli Sinir Ağları Kullanılarak Pirinç Hastalıklarının Sınıflandırılması. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(2), 792-
- Yoon, S.-C., Lawrence, K. C., & Park, B. (2015). Automatic counting and classification of bacterial colonies using hyperspectral imaging. *Food and bioprocess technology*, 8, 2047–2065.
- Yerlikaya, S. (2021). Staphylococcus aureus ATCC 25923 inhibition with propolis in pasteurized and UHT milks. *Journal of Agroalimentary Processes & Technologies*, 27(3).
- Yerlikaya, S., Çiftçi, M., İşler, A., & Arslan, H. Ş. (2022). Determining antibacterial effect of yellow onion (allium cepa) peel extract on some pathogen inoculated in raw, uht and pasteurized milks. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 37(3), 707-716.
- Zhang, B., Zhou, Z., Cao, W., Qi, X., Xu, C., & Wen, W. (2022). A New Few-Shot Learning Method of Bacterial Colony Counting Based on the Edge Computing Device. *Biology*, 11.
- Zhang, J., Li, C., Rahaman, M. M., Yao, Y., Ma, P., Zhang, J., Zhao, X., Jiang, T., & Grzegorzec, M. (2022). A comprehensive review of image analysis methods for microorganism counting: from classical image processing to deep learning approaches. *Artificial Intelligence Review*, 1–70.
- Zhang, Y., Jiang, H., Ye, T., & Juhas, M. (2021). Deep learning for imaging and detection of microorganisms. *Trends in Microbiology*, 29(7), 569–572.

Atf İçin: Erdirik, H., Karcıoğlu, A. A., Tanyolaç, M. B. ve Bulut, H. (2024). Meta-Sezgisel Tabanlı Clustal-SA Algoritmasını Kullanarak DNA Sekanslarında Çoklu Dizi Hizalama. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 544-562.

To Cite: Erdirik, H., Karcıoğlu, A. A., Tanyolaç, M. B. & Bulut, H. (2024). Multiple Sequence Alignment for DNA Sequences by Meta-Heuristic Based Clustal-SA Algorithm. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 544-562.

Meta-Sezgisel Tabanlı Clustal-SA Algoritmasını Kullanarak DNA Sekanslarında Çoklu Dizi Hizalama

Hatice ERDİRİK^{1*}, Abdullah Ammar KARCIOĞLU², Muhammed Bahattin TANYOLAÇ³, Hasan BULUT⁴

Öne Çıkanlar:

- Çalışmada çoklu dizi hizalaması için hem sezgisel yaklaşım hem de aşamalı hizalama kullanılmıştır
- Başarı karşılaştırması için hizalama skoru ve eşleşen sütun sayısı baz alınmıştır
- Aynı uzunluğa sahip dizi hizalamaları üzerinde önerilen Clustal-SA algoritması ClustalW ye göre daha iyi hizalama skoru vermiştir

Anahtar Kelimeler:

- Çoklu dizi hizalama
- Sezgisel yaklaşım
- Clustal algoritması
- Benzetimli tavlama
- Biyoinformatik

ÖZET:

Biyoinformatik, biyolojik verilerin analizi ve kalıtsal ilişkilerin ortaya çıkarılması için matematik, biyoloji ve bilgisayar bilimlerini birleştiren bir disiplindir. Bu alandaki en kritik görevlerden biri, biyolojik dizilerin hizalanmasıyla ilgili olan dizi hizalama problemini çözmektir. Ancak, biyolojik verilerin hızla artması, bu problemi manuel olarak çözülemeye hale getirmiş ve bilgisayar sistemlerinin biyoinformatikte daha yaygın bir şekilde kullanılmasına yol açmıştır. Bu çalışmada, mevcut Clustal algoritması ve benzetimli tavlama algoritması kullanılarak yeni bir dizi hizalama algoritması önerilmiştir. Clustal algoritmasının hız avantajını kullanarak ve benzetimli tavlama algoritmasını entegre ederek, Clustal'ın aç gözlü yaklaşımından uzaklaşarak optimal hizalama skoru elde etmek amaçlanmıştır. Geliştirilen algoritmanın başarısını değerlendirmek için SP (Çiftlerin Toplamı) puanlama sistemi kullanılmış ve hizalama sonucunda sütun eşleşme sayısı dikkate alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen algoritmanın aynı uzunluktaki dizi veri kümeleri üzerinde ClustalW programından daha iyi performans gösterdiğini, MUSCLE programına göre ise bazı veri setlerinde daha başarılı olduğu veya yakın sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur. Bu gelişme, biyoinformatik alanında dizi hizalama problemini çözmek için yeni ve daha etkili bir yaklaşımın potansiyelini vurgulamaktadır. Gelecekte, bu tür geliştirmelerin biyolojik veri analizi alanında daha geniş bir uygulama alanı bulabileceği düşünülmektedir.

Multiple Sequence Alignment for DNA Sequences by Using Meta-Heuristic Based Clustal-SA Algorithm

Highlights:

- Both heuristics and progressive alignment are used for multiple sequence alignment
- Success comparison is based on the alignment score and the number of matched columns
- On sequence alignments of the same length, the proposed Clustal-SA algorithm gave better alignment scores than ClustalW

Keywords:

- Multiple Sequence Alignment
- Heuristic Approach
- Clustal Algorithm
- Simulated Annealing
- Bioinformatics

ABSTRACT:

Bioinformatics is a discipline that combines mathematics, biology and computer science to analyze biological data and reveal genetic relationships. One of the most critical tasks in this field is to solve the sequence alignment problem, which is related to the alignment of biological sequences. However, the rapid increase in biological data has made this problem unsolvable manually and led to the more widespread use of computer systems in bioinformatics. In this study, a new sequence alignment algorithm is proposed using the existing Clustal algorithm and simulated annealing algorithm. By using the speed advantage of the Clustal algorithm and integrating the simulated annealing algorithm, it is aimed to obtain an optimal alignment score by moving away from the greedy approach of Clustal. To evaluate the success of the developed algorithm, the SP (Sum of Pairs) scoring system was used and the number of column matches as a result of the alignment was taken into account. The results obtained revealed that the developed algorithm performed better than the ClustalW program on sequence data sets of the same length, and was more successful or gave similar results on some data sets compared to the MUSCLE program. This development highlights the potential of a new and more effective approach to solving the sequence alignment problem in bioinformatics. It is thought that in the future, such developments may find wider application in the field of biological data analysis.

¹Hatice ERDİRİK ([Orcid ID: 0000-0002-5816-4804](https://orcid.org/0000-0002-5816-4804)), Yıldız Teknik Üniversitesi, Elektrik-Elektronik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Abdullah Ammar KARCIOĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-0907-751X](https://orcid.org/0000-0002-0907-751X)), Atatürk Üniversitesi, Yazılım Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

³Muhammed Bahattin TANYOLAÇ ([Orcid ID: 0000-0002-4368-0988](https://orcid.org/0000-0002-4368-0988)), Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye

⁴Hasan BULUT ([Orcid ID: 0000-0002-4872-5698](https://orcid.org/0000-0002-4872-5698)), Ege Üniversitesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hatice Erdirik, e-mail: herdirik@yildiz.edu.tr

GİRİŞ

Biyoloji bilimler arasında kilit bir rol oynamaktadır. Biyologlar tarafından toplanan büyük miktarda veri ve bu verilerin incelenip, yorumlanma ihtiyacı biyoinformatik biliminin ortaya çıkmasına yol açmıştır (Cohen,2004). Biyoinformatik, biyolojideki verileri kavramsallaştırmak ve veriler arasındaki ilişkileri anlamak için matematik, bilgisayar ve istatistik gibi bilim dallarından yararlanan bir bilim dalıdır (Luscombe ve ark., 2001). Biyoinformatikte birçok uygulama ve görev bulunmaktadır.

Biyolojik dizilerin incelenmesi ve yorumlanmasındaki en yaygın işlemlerden biri dizi hizalama işlemidir. Diziler arası benzer bölgelerin çıkarılması, evrimsel süreç boyunca korunan bölgelerin tespiti, genetik hastalıklarda değişen bölgelerin tespiti gibi birçok araştırmada, genetik dizilerin hizalama işlemi kullanılmaktadır. Bu nedenle dizi hizalama biyoinformatik alanında önemli bir araştırma alanıdır (Botta ve Negro, 2010).

Dizi hizalama işlemi ikili ve çoklu dizi hizalama (Multiple Sequence Alignment-MSA) olarak ikiye ayrılmaktadır. İkili dizi hizalama iki adet dizinin hizalanması işlemidir. MSA, üç veya daha fazla dizinin hizalanması işlemidir (Haque ve ark., 2009). MSA işlemi protein yapısı işlev tahmini, filogen çıkarımı ve dizi analizi için kullanılmaktadır. MSA çözümü NP-complate bir problemdir. Bu nedenle çözümü üstel bir karmaşıklıkla sonuçlanmaktadır (Lee ve ark., 2008).

MSA problemin çözümü için dinamik programlama, meta-sezgisel metotlar, sekanslarla hizalamalar, istatistiksel ve olasılıksal yöntemler kullanılmaktadır. Dinamik programlama, dizilerin matematiksel olarak en uygun hizalanmasını garanti etmektedir. Fakat fazla bellek kullanımı gerektirdiğinden dolayı çoklu dizi hizalama probleminin çözümü için tercih edilmezler. Bu nedenle çözüm için sezgisel tabanlı algoritmalar tercih edilir. Meta-sezgisel algoritmaların çoğu global ve yerel hizalama yöntemlerini birleştirerek aşamalı bir hizalama yaklaşımı sunar. Aşamalı yöntemlerin dezavantajı, erken bir adımda meydana gelen bir hatanın sonraki aşamalarda düzeltilememesidir. Aşamalı ve global hizalamayı birleştiren ilk MSA uygulaması ClustalW'dir. ClustalW'den sonra birçok aşamalı yaklaşımı baz alan program ve algoritma geliştirilmiştir (Pais ve ark. 2014).

Meta-sezgisel algoritmalar tek çözüm tabanlı meta-sezgisel algoritmalar ve popülasyon tabanlı meta-sezgisel algoritmalar diye sınıflandırılır. Tek çözümlüler; Tepe Tırmanışı, Tavlama Benzetimi, Tabu Araması gibi tek bir aday çözümü geliştirmeye odaklanırlar. Meta-sezgisel algoritmalar genellikle deterministik (rastgelelik içermeyen) algoritmalara göre daha yavaştır. Bu yüzden bazı araştırma alanlarında meta-sezgisel algoritmanın çalışma süresini hızlandırmak için girdi verisini ön işlemeden geçirmek popüler hale gelmiştir. Meta-sezgisel algoritmalarındaki son çalışmalar genellikle 3 temel amaca odaklanmıştır ve bunlar; uygunluk fonksiyonunu değiştirmek, operatörleri değiştirmek, melez meta-sezgisel kullanmaktır (Aktan ve Bulut, 2022).

Bu çalışmanın ana hedefi, Clustal algoritması ve Simulated Annealing (SA) algoritmasını birleştirerek yeni bir Clustal-SA algoritması önermek ve bu algoritmanın performansını değerlendirmektir. Önerilen Clustal-SA algoritması, Clustal algoritmasının ürettiği hizalamayı girdi olarak alır ve SA algoritmasının her iterasyonunda hizalama üzerinde mutasyon işlemi uygular. Bu mutasyon işlemi, algoritmanın nasıl gerçekleştirildiği detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

Ayrıca, önerilen Clustal-SA algoritması, ClustalW programıyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Karşılaştırma, hizalama skoru, eşleşen sütun sayısı ve çalışma süresi gibi metrikler üzerinden yapılmıştır. Bu değerlendirme, Clustal-SA algoritmasının ClustalW'ye kıyasla performansını ve etkinliğini belirlemeye yöneliktir.

Sonuç olarak, bu çalışma Clustal ve Simulated Annealing algoritmalarını birleştirerek yeni bir hizalama yöntemi önermektedir. Önerilen yöntem, ClustalW programıyla karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve performansı belirlenmiştir. Bu çalışma, biyoinformatik alanında hizalama problemini çözmek için yeni bir yaklaşım sunmaktadır.

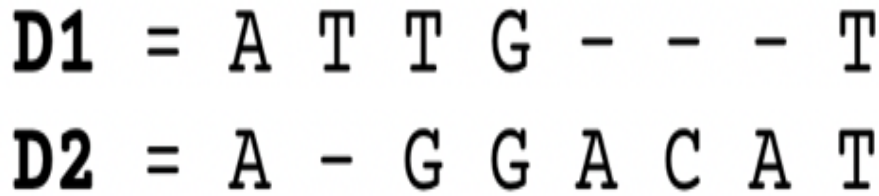
İlerleyen bölümlerde, DNA, RNA ve proteinin yapıları, dizi hizalama, ikili dizi hizalama, MSA probleminin çözümü için geliştirilen çalışmalardan bahsedilmiştir. Clustal, SA algoritması ve çalışma kapsamında önerilen Clustal-SA algoritması açıklanmıştır. MSA probleminin çözümü için önerilen algoritmanın doğruluğunun ve çalışma süresinin değerlendirilmesi için hangi metrik ve fonksiyonların kullanıldığı, hizalama işlemi için kullanılan veri setlerinin özellikleri (dizi uzunlukları, dizilerin adedi) açıklanmıştır. Veri setleri üzerinde uygulanması sonucu elde edilen hizalamaların skorları ve çalışma süreleri karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Önerilen algoritmanın ve yöntemlerin başarısı değerlendirilmiş ve literatüre olan katkıları belirtilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Bu bölümde MSA probleminin tanımı ve temel özelliklerine, gerçekleştirilen hizalama işleminin performansının nasıl değerlendirildiğine ve MSA probleminin çözümü için geliştirilmiş yaklaşımlara değinilmiştir.

Dizi Hizalama Problemi

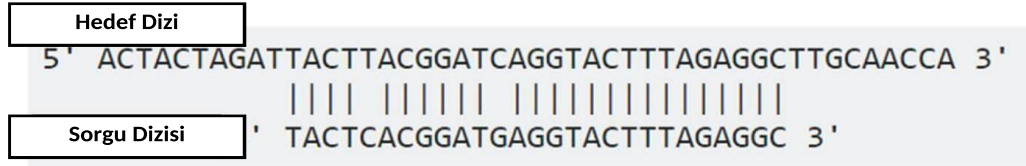
Dizi hizalama, DNA, RNA ve protein dizilerinin düzenlenmesine ve incelenen diziler arasındaki benzer bölgelerin bulunmasına yardımcı olmaktadır. Dizi hizalama probleminde her bir dizi $S = s_1, \dots, s_n$ olarak temsil edilir. Boşluk(indel) ('-' sembolüyle ifade edilen), bir dizinin bazı bölümlerine ekleme veya silme işlemi yapıldığını gösterir. Nükleotid bazları Adenin (A), Sitozin (C), Guanin (G), Timin (T) ve Urasil (U). Alfabe sırasıyla DNA ve RNA için A, C, G, T ve A, C, G, U şeklindedir. Bir proteinin birincil yapısı doğrusal bir amino asit zinciridir. A, R, N, D, C, Q, E, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y ve V ile gösterilen yirmi amino asit vardır (Omar ve ark., 2004). Şekil 1' de "ATTGT" ve "AGGACAT" dizilerinin ikili hizalaması gösterilmektedir.



Şekil 1. İkili hizalama örneği

Dizi hizalama problemi yerel hizalama ve global hizalama diye ikiye ayrılır. Global hizalamada diziler bir bütün olarak hizalanırken, yerel dizi hizalamasında benzerlikler tespit edilir (Bucak ve Uslan, 2011). Smith-Waterman algoritması yerel hizalama algoritmasının örneğidir. Global dizi hizalama ise, her iki dizinin kendi bütünlüğü içerisinde en iyi hizalamayı bulmak için kullanılmaktadır. Needleman-Wunch algoritması global hizalama algoritmasına bir örnektir. Yerel ve global hizalama örneği şekil 2'de hedef ve sorgu dizi üzerinde gösterilmektedir. İkili hizalama probleminin çözümünde genellikle dinamik programlama tercih edilmektedir (Major Differences,2022).

Yerel Hizalama



Global Hizalama



Şekil 2. Yerel ve global hizalama örneği (Major Differences,2022)

MSA problemi

Biyolojik makro molekül diziliminin belirlenmesindeki büyük artışı nedeniyle, üç veya daha fazla nükleik asit ve amino asit diziliminin aynı anda hizalanması yaygın bir gereklilik haline gelmiştir. Basitçe hizalama, benzerliği üst düzeye çıkarmak için boşlukların eklenmesi ile oluşur. Çoklu dizi hizalamaları, dizi ailesinin üyeleri arasında benzerliği göstermeye yaramaktadır. MSA korunmuş bölgelerin vurgulanması amacına da sahiptir. Ayrıca çoklu dizi hizalama proteinlerin ikincil yapılarının tahmininde, aile üyeleri arasındaki evrimsel ilişkileri çıkarmak için kullanılmaktadır.

MSA probleminde amaç, diziler arasındaki eşlesen sembollerin sayısını en üst düzeye çıkarmak ve ayrıca boşluklara izin veriliyorsa yalnızca minimum boşluk eklemeyi kullanmaktır (Likic,2008). MSA, kombinatoriyal problemler olarak adlandırılan, üstel zaman karmaşıklığına sahip bir optimizasyon problemi sınıfına aittir. Zaman karmaşıklığı $O(L^N)$ 'dir. L Hizalanacak dizilerin ortalama uzunluğudur ve N ise hizalanacak dizilerin sayısıdır. Biyolojide, diziler yüzlerce (protein), binlerce (RNA) veya milyonlarca (DNA) uzunluklara sahip olduğundan hizalama işleminde çalışma zamanı uzundur. Bu yüzden, MSA problemi için genellikle dinamik programlama ve sezgisel metotlar kullanılmaktadır (Likic,2008).

Hizalanmış dizilerin skorlarının hesaplanması

Uygulanan dizi hizalama algoritmaları sonucu elde edilen hizalamalar arasında optimal hizalamayı diğer hizalamalardan ayırt etmek için her bir hizalamanın maliyeti tanımlanmaktadır. Bir çoklu hizalamanın maliyetini hesaplamak için amaç fonksiyonu kullanılmaktadır. Amaç fonksiyonları sayesinde çoklu dizi hizalamasının maliyeti hesaplanmaktadır. MSA'ların maliyetini hesaplamak için farklı amaç fonksiyonları kullanılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan amaç fonksiyonu aşağıda açıklanmaktadır.

Çiftlerin Toplamı (Sum of Pairs -SP): SP en popüler amaç fonksiyonlarından biridir. MSA' da SP puanı, N adet dizi bulunan algoritmada $\binom{n}{2}$ ikili hizalama bulunmaktadır. SP skoru sütun tabanlıdır. N hizalanmış dizi sayısı olarak kabul edildiğinde j . sütun için SP puanının hesaplanması Formül 1' de gösterildiği gibidir. Hizalamanın uzunluğu L olarak kabul edildiğinde hizalama (Alignment-A) için SP skoru Formül 2'de gösterildiği gibi hesaplanmaktadır.

$$SP(j) = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{K=i+1}^N PS(C_{ij}, C_{ik}) \quad (1)$$

$$SP(A) = \sum_{i=1}^L \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{K=j+1}^N PS(C_{ij}, C_{ik}) \quad (2)$$

Eşleşen karakterlerin bulunması

Dizi hizalama algoritmalarının uygulanmasıyla elde edilen hizalamada, eşleşen karakter sayısının fazla olması, hizalamanın başarısını gösteren önemli bir metriktir. Bu başarıyı değerlendirmek için elde edilen hizalamadaki eşleşen karakter sayısı, sütunlar gezilerek hesaplanır. Bu, homolog bölgelerin doğru bir şekilde hizalandığını ve biyolojik benzerliklerin korunduğunu gösteren bir ölçüdür.

Çalışma kapsamında öne çıkan Clustal-SA algoritması da başarısını test etmek amacıyla, kullanılan test veri setleri üzerinde elde ettiği hizalamalardaki eşleşen sütun sayısına göre değerlendirilmiştir. Eşleşen sütun sayısının yüksek olması, algoritmanın homolog dizileri doğru bir şekilde hizalama yeteneğini yansıtır.

Bu değerlendirme, özellikle biyolojik verilerin analizi ve evrimsel ilişkilerin belirlenmesi bağlamında önemlidir. Eşleşen sütun sayısındaki artış, algoritmanın biyolojik bilgiyi daha doğru bir şekilde yorumladığını ve homolog bölgeleri başarılı bir şekilde hizalandığını gösterir.

Sonuç olarak, Clustal-SA algoritmasının performansını ölçmede kullanılan eşleşen sütun sayısı, algoritmanın biyolojik diziler üzerindeki hizalama başarısını değerlendirmek için önemli bir kriterdir. Bu değerlendirme, algoritmanın biyoinformatik uygulamalarda ne kadar etkili olduğunu anlamak için kullanışlı bir metriktir.

İlgili çalışmalar

MSA probleminin çözümü için kullanılan yöntemler genellikle iki kategoriye ayrılabilir: Dinamik Programlama ve Sezgisel Metotlar. Sezgisel metotlar içerisinde öne çıkan yaklaşımlar, Aşamalı Global Hizalama ve Yinelemeli Global Hizalamadır.

Dinamik programlama kullanılarak geliştirilen çözümler

Dinamik programlama, orijinal problemde en iyi çözümü bulmak için alt problemleri kullanır. Daha küçük problemleri en iyi şekilde çözmeye çalışır. Dinamik programlama böl ve yönet (divide-and-conquer) stratejisini kullanır (Diamantis ve Anna, 2005). MSA probleminde en uygun çözümü üretmek için en doğru yöntem dinamik programlamadır. Fakat N ayrı dizi için, standart ikili dizi hizalamasında oluşturulan matrisin N boyutlu eşdeğerini oluşturmak gerekir. Arama uzayı N ile üstel olarak artar. Üstel olarak artan karmaşıklıktan dolayı dinamik programlama MSA probleminin çözümünde genellikle tercih edilmemektedir. Dinamik programlama ikili hizalama problemin çözümünde tercih edilmektedir. Needleman–Wunch ve Smith-Waterman algoritmalarıdır dinamik programlamaya örnek verilebilir. Dinamik programlama algoritmaları çoklu dizi hizalama gerçekleştiren sezgisel yöntemlerin işlem adımlarında kullanılmaktadır (Diamantis ve Anna, 2005).

Her bir dizi indislenerek A skor matrisi $D(i, j)$ özyinelemeli şekilde Formül 4’te gösterildiği gibi oluşturulur.

$$D(i, j) = \max \begin{cases} D(i-1, j-1) + S(x_i, x_j) \\ D(i-1, j) + G \\ D(i, j-1) + G \end{cases} \quad (4)$$

$S(i, j)$ i ve j indekslerinde yer alan her bir amino asit karakterine karşılık gelen skor matrisindeki değeridir. G ise boşluk cezasıdır. Dinamik programlamadaki skorlama matrisi bu şekilde oluşturulmaktadır.

Şekil 4’te “GCAT” ve “GAT” dizilerinin dinamik programlama kullanılarak hizalanması gösterilmiştir. Skorlama ve geri izleme matrislerinin ilk sıra ve sütunları başlatma puanları ile doldurulmuştur. Daha sonra $D(2,2)$ hücresinden başlayarak skorlama matrisi doldurulmaya başlanmıştır. $D(2,2)$ hücresi sol üst çaprazındaki hücreye, üstündeki hücreye ve solundaki hücreye

bakılarak doldurulmaktadır. $D(1,1)$, $D(1,2)$ ve $D(2,1)$ skor matrisinden okunur. $S(S,A)$ Değeri ise BLOSUM62 skor matrisindeki $S \Leftrightarrow A$ eşleşmesinden alınır. Bu işlem, Formül 5'te gösterildiği gibidir. Formülde görüldüğü gibi en yüksek değer q_{diag} 'de elde edilmiştir. $D(2,2)$ Hücresinde olduğu gibi tüm hücrelerin doldurulması sonucu skor ve geri izleme matrisi elde edilmiştir. Geri izleme matrisinde sol en alt hücreden başlanarak hücre içerisindeki yönler takip edilerek "Bitiş" noktasına gelinmiştir.

$$q_{diag} = D(1,1) + S(S,A) = 0 + 1 = 1,$$

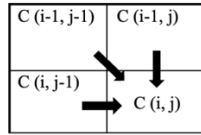
$$q_{up} = D(1,2) + g = -10 + (-10) = -20,$$

$$q_{left} = D(2,1) + g = -10 + (-10) = -20$$

(5)

| | | G | C | A | T |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | -10 | -20 | -30 | -40 |
| G | -10 | | | | |
| A | -20 | | | | |
| T | -30 | | | | |

| | | G | C | A | T |
|---|--------|-----|-----|-----|-----|
| | Biti | Sol | Sol | Sol | Sol |
| G | Yukarı | | | | |
| A | Yukarı | | | | |
| T | Yukarı | | | | |



| | | G | C | A | T |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | -10 | -20 | -30 | -40 |
| G | -10 | 6 | -4 | -14 | -24 |
| A | -20 | -4 | 6 | 0 | -10 |
| T | -30 | -14 | -4 | 6 | 5 |

| | | G | C | A | T |
|---|--------|---------|---------|---------|---------|
| | Biti | Sol | Sol | Sol | Sol |
| G | Yukarı | Köşegen | Sol | Sol | Sol |
| A | Yukarı | Yukarı | Köşegen | Köşegen | Sol |
| T | Yukarı | Yukarı | Yukarı | Köşegen | Köşegen |

| | | G | C | A | T |
|---|--------|---------|---------|---------|---------|
| | Biti | Sol | Sol | Sol | Sol |
| G | Yukarı | Köşegen | Sol | Sol | Sol |
| A | Yukarı | Yukarı | Köşegen | Köşegen | Sol |
| T | Yukarı | Yukarı | Yukarı | Köşegen | Köşegen |

Hizalama:
GCAT
G_AT

Şekil 4. Dinamik programlama kullanarak ikili dizi hizalama örneği [18]

Global hizalama dizilerin tüm uzunluklarını hizalanmaya çalışır. Çoğunlukla yüksek benzerliğe sahip diziler arasında kullanılır. Needleman-Wunch algoritması (Smith ve Waterman, 1981), boşlukların eklenmesine izin veren iki diziyi global olarak hizalamak için kullanılan dinamik programlama yöntemidir (Thompson ve ark. 1994) Algoritma, aslında büyük bir problemi (örneğin tam diziyi) bir dizi daha küçük probleme böler ve daha büyük probleme en uygun çözümü bulmak için daha küçük problemlerin çözümlerini kullanır. Dizileri uzunlukları boyunca hizalamaya çalışmak yerel alanlarda uyumsuzluğa neden olabilir. Smith-Waterman algoritması (Smith ve Waterman, 1981), global hizalama sonucu oluşan sorunu gidermek için yerel hizalama yapan bir çözüm önermiştir.

Sezgisel metotlar kullanılarak geliştirilen çözümler

Sezgisel metotlar MSA probleminin çözümünde aşamalı, yinelemeli ve meta yöntemler olarak üçe ayrılır.

Aşamalı Global Hizalama: En benzer çiftle başlayan ve en uzak akraba olana doğru ilerleyen ikili hizalamaları birleştirerek bir MSA oluşturur. Burada iki temel sorun bulunmaktadır: yerel minimum sorunu ve hizalama parametrelerinin seçimi. Yerel minimum sorunu, hizalama stratejisinin “açgözlü” yaklaşımından kaynaklanmaktadır. Algoritma ilk olarak kılavuz ağacı takip ederek dizileri bir araya getirir. Bu nedenle hizalama işleminin başında yapılan hata ilerleyen adımlarda düzeltilemez. Hizalama parametrelerinin seçimi problemi ise yerel minimum problemi kadar önemlidir. Ağırlık matrisi ve belirlenen boşluk cezalarını algoritma için uygun olduğu varsayılmaktadır. Parametreler uygun olmadığında optimale yakın bir çözüm bulunmayacaktır (Diamantis ve Anna,2005). Aşamalı yaklaşımı baz alan ve MSA probleminin çözümünde yaygın olarak kullanılan uygulamalar ise CLUSTAL W, T-COFFEE ve MUSCLE programlarıdır. Aşamalı hizalamanın hızını ve hizalama doğruluğunu arttırmak için devam eden çalışmalar, sıralı ve hiyerarşik kümeleme yöntemlerini birleştirerek hızlı bir şekilde kılavuz ağacı oluşturmayı hedeflemektedir. Bu amaçla, Chen ve diğer araştırmacılar tarafından 2023 yılında StarTree adı verilen yeni bir yöntem tanıtılmıştır. StarTree yöntemi, hız ve doğruluk açısından aşamalı hizalama işlemlerini iyileştirmeyi amaçlamaktadır (Chen ve ark., 2023).

Clustal algoritmasından meydana gelen Clustal seri programları, küresel çoklu dizi hizalaması için yaygın olarak kullanılmaktadır. İlk Clustal programı 1988 yılında Des Higgins tarafından yazılmıştır. Geliştirildiği dönem şartlarında zayıf hesaplama gücüne sahip olan kişisel bilgisayarlarda verimli olarak çalışacak şekilde tasarlanmıştır. Dinamik programlamayı kullanan aşamalı hizalama stratejisini benimsenmiştir.

Çoklu hizalama, bir kılavuz ağacındaki dallanma sırasını takip eden bir dizi ikili hizalama ile aşamalı olarak oluşturulur. İlk ön karşılaştırmada hızlı bir kelime bazlı hizalama algoritması kullanılmış ve kılavuz ağacı UPGMA yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. 1992’de, profil hizalamalarını (mevcut hizalamaların hizalamaları) ve Komşu Birleştirme (NJ) yöntemini kullanarak çoklu hizalamadan ağaçlar oluşturma olanağını içeren ClustalV adı verilen yeni bir sürüm piyasaya sürülmüştür. Serinin üçüncü nesli, 1994 yılında piyasaya sürülen ClustalW, dizi ağırlıklandırma, konuma özgü boşluk cezaları ve çoklu hizalamanın her aşamasında uygun bir kalıntı karşılaştırma matrisinin otomatik seçimi dahil olmak üzere hizalama algoritmasında bir dizi iyileştirme içeriyor (Aarts ve Van Laarhoven, 1987).

Temel Clustal algoritması üç adımdan oluşur.

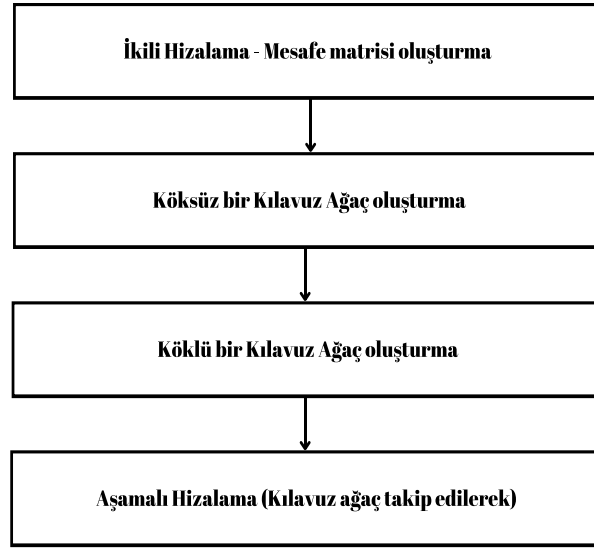
• Her dizi çiftinin uzaklığını veren bir mesafe matrisini hesaplamak için tüm dizi çiftleri hesaplanır.

• Mesafe matrisinden yararlanılarak bir kılavuz ağaç (guide tree) oluşturulur.

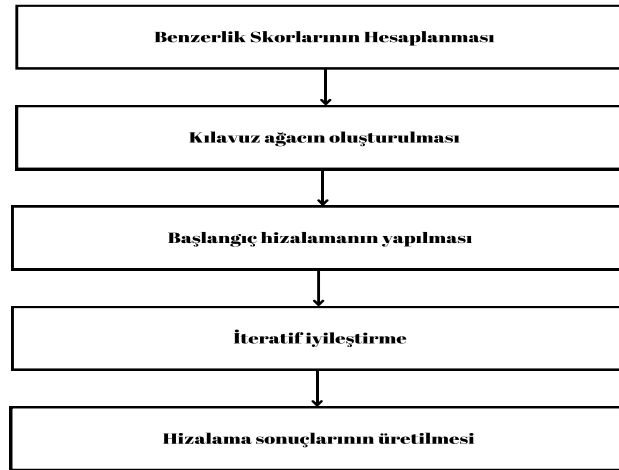
• Diziler kılavuz ağaçtaki dallanma sırasına göre aşamalı olarak hizalanır.

Clustal algoritmasının işlem adımları Şekil 5’te gösterilmiştir.

MUSCLE programı, birden fazla dizi hizalamak için kullanılan etkili bir araçtır. Bu algoritma, iteratif bir ilerleme yöntemi kullanarak çoklu diziler arasındaki benzerlikleri belirler ve hizalamayı iyileştirir. Öncelikle, diziler arasındaki benzerlikleri tahmin etmek için bir rehber ağaç oluşturur ve ardından bu rehber ağacı kullanarak başlangıç bir hizalama yapar. Daha sonra, hizalama iteratif olarak iyileştirilir, böylece diziler arasındaki benzerlikler ve tutarlılık artar. MUSCLE, genellikle hızlı, verimli ve doğru hizalamalar üretme yeteneğiyle öne çıkar ve moleküler biyoloji ve biyoinformatik çalışmalarında yaygın olarak kullanılır (Edgar, 2004).



Şekil 5. Clustal algoritmasının temel işlem adımları



Şekil 6: MUSCLE programı temel işlem adımları

MUSCLE programının işleyiş adımları aşağıda açıklanmış ve işlem adımları kısaca şekil 6'da gösterilmiştir.

- Giriş Dizilerinin Alınması: Kullanıcı tarafından sağlanan veya bir dosyadan okunan giriş dizileri alınır.

- Benzerlik Skorlarının Hesaplanması: Giriş dizileri arasındaki benzerlik skorları hesaplanır. Bu skorlar genellikle iki dizi arasındaki hizalamada kullanılan bir skor matrisini oluşturur.

- Rehber Ağacının Oluşturulması: Hesaplanan benzerlik skorlarına dayanarak, rehber ağacı oluşturulur. Bu ağaç, diziler arasındaki evrimsel ilişkileri gösterir.

- Başlangıç Hizalamasının Yapılması: Rehber ağacı kullanılarak, başlangıç bir hizalama oluşturulur. Bu hizalama genellikle önyüklemeli hizalama yöntemiyle yapılır.

- İteratif İyileştirme Adımları: Başlangıç hizalaması üzerinde bir dizi iteratif iyileştirme adımı gerçekleştirilir. Her adımda, hizalama daha da iyileştirilir ve diziler arasındaki benzerlikler daha doğru bir şekilde yorumlanır.

- Sonuçların Üretilmesi: İteratif iyileştirme adımları tamamlandıktan sonra, son hizalama sonuçları üretilir. Bu sonuçlar genellikle bir dosyaya veya ekrana yazdırılır.

Yinelemeli Global Hizalama: Yinelemeli hizalama, bir hizalama üretebilen ve daha fazla iyileştirme yapılamayana kadar bir dizi döngü (yineleme) aracılığıyla onu iyileştirebilen algoritmalara dayanır. Yinelemeli yöntemler, hizalamayı iyileştirmek için kullanılan stratejiye bağlı olarak deterministik veya skolastik olabilir. En basit yinelemeli stratejiler deterministiktir. Çoklu hizalamadan dizileri tek tek çıkarmayı ve bunları kalan dizilerle yeniden hizalamayı içerirler. Bazı yöntemler hem aşamalı hem de yinelemeli yaklaşımı kullanıyor olabilir. Yinelemeli yaklaşımda elde edilen hizalamada iyileştirme olmuyorsa bir müddet sonra algoritma sonlandırılır. Stokastik yinelemeli yöntemler, Hidden Markov Model (Gizli Markov Modeli) eğitimi, Simulated Annealing (Benzetimli Tavlama), genetik algoritmalar, yapay arı kolonisi ve parçacık sürü optimizasyonu gibi çeşitli algoritmaları içerir. Bu tür yöntemler, çoklu dizi hizalaması gibi birçok uygulamada kullanılmaktadır. Örneğin, literatürde yaygın olarak kullanılan SAGA stokastik yinelemeli yöntemlere bir örnektir (Diamantis ve Anna, 2005). Ayrıca, Paruchuri ve arkadaşlarının (Paruchuri ve ark., 2023) parçacık sürü optimizasyonunu kullandığı çoklu dizi hizalama uygulaması da bu tür bir yaklaşımın bir örneğidir. Bu tür yöntemler, karmaşık diziler arasında hizalama yaparak biyolojik verilerin analizinde kullanılır ve genellikle büyük veri setlerini ele almak için etkili bir şekilde çalışırlar.

Çalışmada kullanılan Benzetimli Tavlama algoritması, temel olarak Monte Carlo yönteminin bir genellemesidir. Konsept, tavlama sürecinde sıvıların donması veya metallerin yeniden kristalleştirilmesine dayanmaktadır. Bu yaklaşımın kombinatoryal (bütünleştirici) problemlere genelleştirilmesi kolaydır. Termodinamik sistemin mevcut durumu, kombinatoryal(bütünleştirici) problemin mevcut çözümüne benzer, termodinamik sistemin enerji denklemi amaç fonksiyonuna benzer ve temel durum global minimuma benzer (Russel ve Norvig, 2010).

Benzetimli tavlama (SA) algoritmasının MSA problemi çözümünde kullanımı

SA algoritması, MSA problemini çözmek için kullanılan etkili bir optimizasyon algoritmasıdır. SA, kombinatoryal optimizasyon problemlerini çözmek ve genel çözüm alanlarını araştırmak için kullanılan olası bir algoritmadır. SA algoritmasının sözde kodu Şekil 7’te gösterilmiştir. Benzetimli Tavlama Algoritmasının MSA problemlerindeki kullanımıyla ilgili bazı temel bilgiler şöyledir:

Optimizasyon süreci

SA, bir enerji fonksiyonu üzerinden çalışır. MSA probleminde enerji, hizalama skoru veya benzer bir ölçü olabilir. Çalışmada enerji hizalama skoru olarak ele alınmıştır. Algoritma, enerji fonksiyonunu maksimize etmeye çalışarak en iyi hizalamayı bulmaya çalışır.

Başlangıç durumu

SA, başlangıçta rastgele bir çözümle başlar. Bu, MSA probleminde başlangıç hizalamasının belirlenmesinde kullanılır. Gerçekleştirilen çalışmada başlangıç hizalama ClustalW programının çalıştırılmasıyla elde edilen hizalamadır.

Sıcaklık azaltma

SA'nın belirgin bir özelliği, zamanla sıcaklığın azaltılmasıdır. Sıcaklık, çözüm alanında rastgele gezinme olasılığını etkiler. Yüksek sıcaklıkta daha fazla kabul edilebilir olasılıklı çözümlere izin verirken, düşük sıcaklıkta daha dar bir arama alanında odaklanmayı sağlar. SA algoritmasının uygulanmasındaki en büyük sorun, kombinatoryal problemdeki serbest bir parametreye göre T sıcaklığı için açık bir analoginin bulunmamasıdır. Ayrıca, yerel minimumlarda sürüklenmenin önlenmesi başlangıç sıcaklığının seçimine, her sıcaklıkta kaç yinelemenin gerçekleştirildiğine ve her adımda sıcaklığın ne kadar azaldığına bağlıdır.

Gezgin hareket

SA, mevcut çözümü bir miktar değiştirerek, yeni bir çözümü değerlendirir. Bu, MSA probleminde dizilerin sırasını veya hizalamayı değiştirmek anlamına gelir. Gerçekleştirilen çalışmada bu değişiklik mutasyon işlemi ile sağlanmıştır. Mutasyon işlemi çözümlerin benzer olmasını engeller ve SA algoritmasının yerel çözümlerden kaçma olasılığını artırır. SA algoritmalarında mutasyon oranı düşük olarak tutulmaktadır. Bunun nedeni, yüksek mutasyon oranlarının SA algoritmasını ilkel rastgele algoritmaya dönüştürmesidir (Mirjalili, 2019). SA algoritmasında bir önceki adımda oluşan C1 kromozomu üzerinde uygulanmaktadır. Kromozom nükleotid ve boşluk karakterlerinden oluşmaktadır. Mutasyon işlemi C1 kromozomunda rastgele belirlenen bir konuma boşluk karakterinin eklenmesi veya boşluk karakterinin silinmesi ile gerçekleşir. Boşluk karakterinin eklenmesi ve silinmesi değeri 0,5 olan bir mutasyon olasılığına bağlıdır.

Kabul kriteri

Yeni çözümün enerji fonksiyonu (hizalama skoru) eski çözümden daha iyi ise, yeni çözüm kabul edilir. Ancak, daha kötü bir çözüm durumunda bile belirli bir olasılıkla kabul edilebilir. Bu, yerel minimumlardan kaçınmaya ve genel çözüm alanını daha iyi keşfetmeye yardımcı olur. SA algoritması MSA problemi çözümü için uygulanırken döngü, kromozom (aday çözüm) üzerindeki rastgele hareketi seçmektedir ve mutasyon olarak temsil edilir. Güncel (current) değişkeni ise hizalanan dizilerimizin olduğu bir kromozomdur. Bu kromozom üzerinde 0,5 olasılığına dayanarak mutasyon işlemi uygulanmaktadır. Bu işlemde uygunluk değerini arttırmak hedeflenir. Eğer mutasyon işlemi uygunluk değerini yükseltiyorsa hemen kabul edilir ve güncel değerine mutasyon sonucu elde edilen kromozom geçer. Aksi durumda $e^{-DE/T}$ ifadesinin 0-1 aralığında rastgele seçilen bir sayıdan büyük olması durumunda mutasyon sonucu elde edilen kromozom kabul edilir.

Yinelemeli iyileştirme

SA, belirli bir sıcaklık azaltma oranında ve belirli bir iterasyon sayısında çalışarak çözümü iyileştirmeye devam eder. Bu süreç, global optimuma yaklaşmayı amaçlar. Eğer sıcaklık yavaş bir şekilde düşürülürse, olasılık 1'e yaklaşırken algoritma global optimumu bulur. Algoritma başarısı için ilk sıcaklık oranı ve soğuma oranı oldukça önemlidir (Russel ve Norvig, 2010).

```

Algoritma SimulatedAnnealing(problem):
  Çözüm = BaşlangıçÇözümüOluştur(problem)
  En İyiÇözüm = Çözüm
  T = BaşlangıçSıcaklık
  T_min = SonSıcaklık
  α = SoğutmaOranı

  while T > T_min:
    for i in range(iterasyon_sayısı):
      Yeni_Çözüm = Rastgele_Tetikle(Çözüm) # Mutasyon ile rastgele çözüm üretme
      Eski_Maliyet = Hesapla_Maliyet(Çözüm)
      Yeni_Maliyet = Hesapla_Maliyet(Yeni_Çözüm)
      ΔE = (Yeni_Maliyet) - (Eski_Maliyet)

      if ΔE < 0:
        Çözüm = Yeni_Çözüm
        if Yeni_Maliyet < Hesapla_Maliyet(En İyiÇözüm):
          En İyiÇözüm = Yeni_Çözüm
      else:
        P = exp(-ΔE / T)
        if Rastgele(0, 1) < P:
          Çözüm = Yeni_Çözüm

    T = T * α

  Return En İyiÇözüm

```

Şekil 7. Benzetimli tavlama algoritmasının sözde kodu

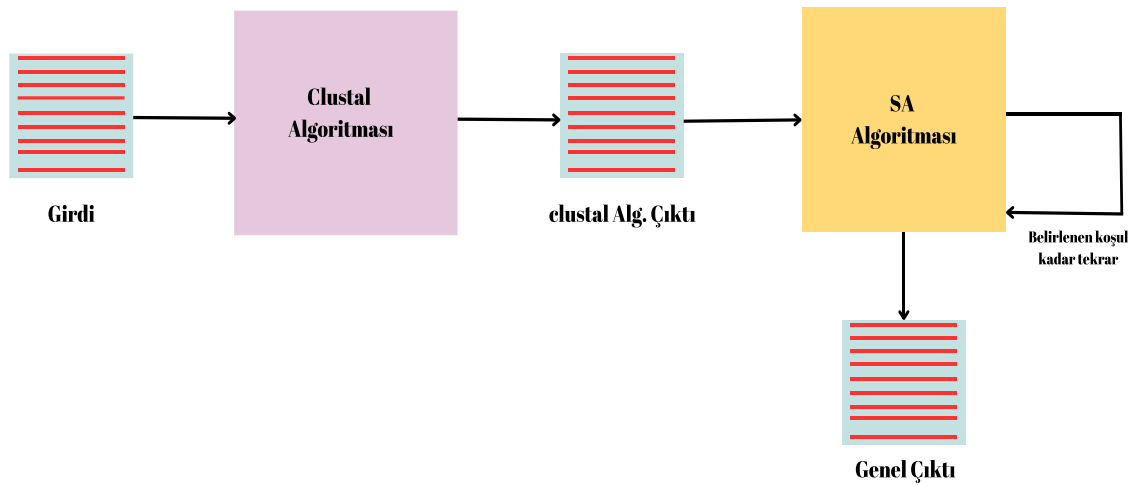
Önerilen Meta-sezgisel tabanlı MSA algoritması: Clustal-SA

Bu çalışmada, Clustal ve Benzetimli Tavlama (Simulated Annealing-SA) algoritmalarının iyi yönleri birleştirilerek hibrit bir MSA algoritması önerilmiştir. Clustal-SA algoritması, dizi setine Clustal algoritması uygulanması ile elde edilen hizalamanın SA algoritmasına girdi olarak verilmesi ve SA algoritmasının yeni bir hizalama üretmesi ile oluşmaktadır. Şekil 8'de Clustal-SA algoritmasının akış şeması gösterilmektedir.

Clustal algoritması bellek kullanımı ve çalışma hızı açısından avantajlı olduğu için tercih edilmiştir. Clustal algoritmasının aşamalı yaklaşımın sonucu olan açgözlü yaklaşımından dolayı meydana gelecek hizalama hatalarından kurtulmak için SA algoritmasından yararlanılmıştır. Clustal-SA algoritmasında uygulanan işlem adımları şu şekildedir:

1. Dizi veri seti üzerinde ilk olarak Clustal algoritması uygulanmaktadır.
2. Uygulama sonucunda elde edilen çoklu dizi hizalama çıktısı SA algoritmasına girdi olarak verilmektedir.
3. SA algoritması ile girdi olarak verilen hizalama üzerinde mutasyon işlemleri (boşluk ekleme, boşluk silme) uygulanmaktadır. Hizalama üzerinde uygulanan mutasyon işlemlerinin sayısı SA algoritmasının parametre değerlerine göre değişmektedir.
4. SA algoritması tamamlandığında elde edilen hizalama Clustal algoritmasının çıktısıdır.
5. Clustal-SA algoritması sonucunda elde edilen hizalama, Clustal algoritması uygulanarak elde edilen hizalama ile hizalama skoru ve eşleşen sütun sayısına göre bir karşılaştırılma yapılmaktadır.

Clustal-SA Algoritması



Şekil 8. Önerilen Clustal-SA algoritması akış şeması

Kullanılan veri seti ve özellikleri

Bu çalışmada, geliştirilen algoritmaların doğruluk ve hızlarını test etmek, MSA probleminin çözümü için sık tercih edilen algoritmalar ile başarılarını karşılaştırmak için Cicer reticulatum kloroplast geni NCBI sitesinden alınarak kullanılmıştır. Bu gen üzerinde belirli indisler arasında bulunan genler seçilmiştir. Cicer reticulatum kloroplast geninin nasıl kullanıldığı aşağıda detaylı bir şekilde açıklanmaktadır.

Cicer reticulatum kloroplast geni için NCBI sitesinden bu genin referans veri setinden başlangıç ve bitiş indisleri belli olan bazı genler seçilmiştir. Referans veri setinde CDS başlığı ile genlerin ismi

belirtilmektedir. Genlerin ismi ile genlerin başlangıç ve bitiş adresleri de verilmektedir. Başlangıç ve bitiş indisleri verilen genler referans veri seti içerisinde elde edilmiştir. Daha sonra bu genlerin her birinin tamlayanı alınmıştır. (A'yı T'ye, T'yi A'ya, C'yi G'ye, G'yi C'ye dönüştürme işlemi) ve tamlayanı alınan genler ile kendi elde ettiğimiz *Cicer reticulatum* kloroplast geni üzerinde sezgisel bir yaklaşıma dayalı eşleştirme yapılmıştır.

Sezgisel yaklaşımda tamlayanı(complement) alınan genin son 10 veya ilk 10 karakterlerinin eşleştiği indisler baz alınarak yaklaşık eşleştirme yapılmıştır. Eğer son 10 veya ilk 10 karakter tam olarak eşleşmiyorsa k-uyuşmazlık(mismatch) sayısı 1'er azaltılarak yaklaşık dizi eşleştirme gerçekleştirilmiştir. Buradaki temel amaç, tamlayanı alınan gen bölgesini doğrudan dizi hizalama işlemine tabi tutmadan önce yaklaşık dizi eşleştirme işlemi gerçekleştirerek olası eşleşebilecek indisleri ortaya çıkarabilmektir.

Son k adet veya ilk k adet dizi eşleşme elde edildiğinde eşleşmenin olduğu indisin başlangıç indisine tamlayanı alınan genin başlangıcı hizalanarak dizi hizalama gerçekleştirilir ve skor elde edilir. Bunlar, son k ve ilk k karakterin eşleştiği tüm yaklaşık eşleşmelerin elde edildiği indisler için tek tek yaparak dizi hizalama ve skor hesaplama işlemi gerçekleştirilmiştir.

İlk 10 ve son 10 nükleotid eşleşmesi olmadığında 1'er azaltarak ilk ve son 9,8,7, ... gibi olası tüm nükleotid eşleşmelerine bakılmıştır. İlk 10,9, 8... nükleotid eşleşmesi gerçekleştiği durumda eşleşmenin başladığı indis baz alınarak tamlayan uzunluğu kadar bir gen parçası alınmıştır. Son 10,9, 8... nükleotid eşleşmesi gerçekleştiğinde alınan nükleotid dizisinin son elemanı son indis alınarak geriye doğru tamlayanı uzunluğu kadar gidilip aranan genin uzunluğu kadar gen parçası elde edilmiştir. *Cicer reticulatum* kloroplast geni için NCBI sitesinden bu genin referans veri setinden başlangıç ve bitiş indisleri belli olan "rps12", "pbf1", "rps18" genleri seçilmiştir.

Veri setinin elde edilmesi

Cicer reticulatum kloroplast geninden alt veri setlerinin hizalama işlemi için nasıl elde edildiği aşağıdaki gibidir. Örn. *CDS: gene" rps12"* geni için," rps12" genine ait "trnN-GUU" isimli 917. . . 990 indisleri arasında bulunan gen ve genin tamlayanı aşağıda verilmiştir.

Gen:TCTCCCCAAATAGGATTTGAACCTACGACCAATCGGTAAACAGCCGACCGCTCT
ACCACTGAGCTACTGAGGAA

Tamlayan:AGAGGGGTTTATCCTAAACTTGGATGCTGGTTAGCCAATTGTCGGCTGGC
GAGATGGTGA CTGATGACTCCTT

• İlk 10 alt dizi: AGAGGGGTTT

– İlk 8 eşleşen AGAGGGGT: (indis aralığı 72959-73032)

AGAGGGGTATTCTCCTATATTTTTTTTGTATCATTTTGGCGGCATGGCCGAGTGGTA
AGGCGGGGGACTGCAAA

• Son 10 alt dizi: ATGACTCCTT

– İlk 9 eşleşen ATGACTCCT: (indis aralığı 80163-80236)

AGCTCGCGCAGCTGCTGCAGGATTTGAAAAAGGAATTGATCGAGATTTTGAGCCTGT
TCTTTCCATGACTCCTC

"trnN-GUU" genin tamlayanının ilk 10 nükleotidinde eşleşme gerçekleşmemiştir. Bu nedenle nükleotid sayısı 1 azaltılarak eşleşmeler kontrol edilmiştir. İlk 8 nükleotidin eşleşmesinin sağlandığı indis konumları bulunmuştur. Son 10 nükleotidinde son 9 nükleotid alındığında bir eşleşme olmuştur. Bu eşleşme sonucu elde edilen indisler belirtilmiştir. İlk ve son eşleşme sonucunda elde edilen gen blokları tamlayan ile hizalanmıştır.

Yukarıda örneği verilen işlemler her bir gen ve tamlayanı için ayrı ayrı uygulanmıştır. Çizelge 1’de elde edilen genler, genlerin dizi uzunlukları, dizi sayıları ve her bir gen için dizi benzerlikleri verilmiştir. Gen benzerlikleri Hamming mesafe algoritması kullanılarak hesaplanmıştır.

Cicer reticulatum kloroplast veri setinden elde edilen genlere ek olarak uzunlukları aynı olmayan Opuntia adlı veri setinde geliştirilen algoritmaların performansını test etmek için kullanılmıştır. Dizi seti içerisinde 8 adet DNA dizisi bulunmaktadır. Veri setindeki en uzun dizi boyutu 902, en kısa dizi boyutu ise 893’tür. Gen dizisi benzerliği ise %63’tür.

Çizelge 1. Veri setlerinden elde edilen genler ve özellikleri

| Elde Edilen Gen | Gen İsmi | Gen Uzunluğu | Dizi Sayısı | Benzerlik (%) |
|-----------------|----------|--------------|-------------|---------------|
| rps12 | trnN-GUU | 82 | 3 | 28 |
| | rrn5 | 143 | 4 | 27 |
| | rrn4.5 | 124 | 3 | 30 |
| pbf1 | psbT | 118 | 3 | 26 |
| rps18 | rpl33 | 242 | 11 | 33 |

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, geliştirilen Clustal-SA algoritmasındaki parametrelerin değerlerinin değiştirilmesiyle elde edilen skorlar detaylı bir şekilde incelenmiştir. Farklı parametre kombinasyonları kullanılarak elde edilen yüksek skorlar, geliştirilen algoritmanın başarısını değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Bu skorlar, dizi hizalamada yaygın olarak kullanılan ClustalW programının performansıyla karşılaştırılmıştır.

Clustal-SA algoritması, Python programlama dili ile kodlanmış ve deneyler sırasında elde edilen sonuçlar için süre ve skor değerleri hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar için 30 tekrarın standart sapması (SD) ve ortalaması (AVG) alınmıştır. Ayrıca, hizalama skorları SP (Çiftlerin Toplamı) amaç fonksiyonu kullanılarak belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, farklı parametre setleriyle yapılan denemelerin optimal skorları belirlemede etkili olduğunu göstermektedir. Yüksek skor elde edilen parametreler, geliştirilen Clustal-SA algoritmasının başarısını artırmada önemli bir rol oynamaktadır.

Bu parametre optimizasyonu ve karşılaştırma çalışmaları, geliştirilen algoritmanın biyolojik verilerin analizi ve dizi hizalama probleminin çözümü için etkili bir araç olduğunu vurgulamaktadır. Elde edilen sonuçlar, Clustal-SA algoritmasının biyoinformatik alanındaki potansiyelini desteklemekte ve gelecekteki çalışmalara yönlendirme sağlamaktadır.

Ayrıca, MSA algoritmalarının performansını değerlendirmek için seçilen metrikler arasında biyolojik doğruluk, eşleşen sütun sayısı ve çalışma süresi önemli bir yer tutmaktadır. Bu metrikler, algoritmaların gerçek dünya biyolojik verilerle uyumlu hizalamalar üretme yetenekleri, hizalama kalitesi ve uygulama süreleri hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır.

SA Algoritması Parametre Optimizasyonu

Bu çalışmada kullanılan SA algoritmasının performansını etkileyen önemli faktörler, başlangıç sıcaklığı ve soğuma oranıdır. Bu parametreler, SA algoritmasının iterasyon sayısını belirlerken çalışma süresi, başlangıç sıcaklığı arttığında artmakta ve soğuma oranı arttığında ise çalışma süresi azalmaktadır.

Başlangıç sıcaklığı ve soğuma oranı değerlerini belirlemek için farklı kombinasyonlar denendi. Başlangıç sıcaklığı sırasıyla 50.000, 100.000 ve 150.000 olarak seçildi. Tüm veri setlerini değerlendirdiğimizde, başlangıç sıcaklığı değeri 100.000 olarak belirlendi. Bu değer seçildiğinde, 50.000 başlangıç sıcaklığına göre hizalama skoru başarısı genelde arttı. Başlangıç sıcaklığı 150.000 olarak seçildiğinde ise genelde başarısız bir performans görüldü. Çizelge 2’de Clustal-SA

algoritmasında, SA algoritmasının başlangıç sıcaklığı parametre değerlerinin değiştirilmesi sonucu elde edilen skor, sütun eşleşme sayısı ve çalışma süresi sonuçları gösterilmiştir.

Soğuma oranı için ise 0,003 ve 0,005 değerleri denenmiş, tüm veri setlerini değerlendirdiğimizde soğuma oranı 0,003 olarak seçilmiştir. Bu değer seçildiğinde, 0,005 değerine göre hizalama skoru başarısı ve eşleşen sütun sayısı değerlerine göre Clustal-SA algoritması daha iyi hizalama performansı göstermiştir. Çizelge 3'te Clustal-SA algoritmasında, SA algoritmasının soğuma oranı parametre değerlerinin değiştirilmesi sonucu elde edilen skor, sütun eşleşme sayısı ve çalışma süresi sonuçları gösterilmiştir.

Sonuç olarak, önerilen hibrit Clustal-SA algoritmasında, başlangıç sıcaklığı ve soğuma oranı parametre değerleri sırasıyla 100.000 ve 0,003 olarak belirlenmiştir. Bu değerler, yapılan karşılaştırmalar sonucunda en iyi performansı sağlamıştır ve önerilen algoritmanın dizi hizalama probleminde etkili bir çözüm sunduğunu göstermektedir.

Çizelge 2. SA algoritmasında başlangıç sıcaklığının farklı değerler almasıyla skor ve eşleşen sütun sayısının (Sütun E.) (ortalama ve standart sapma ile) değişimi

| Parametre | Veri Seti | Başlangıç Sıcaklığı=50.000 | | | Başlangıç Sıcaklığı=100.000 | | | Başlangıç Sıcaklığı=150.000 | | | |
|---------------------|----------------|----------------------------|----------|-----------|-----------------------------|----------|----------|-----------------------------|----------|----------|--------|
| | | Skor | Sütun E. | Süre (sn) | Skor | Sütun E. | Süre(sn) | Skor | Sütun E. | Süre(sn) | |
| Başlangıç sıcaklığı | trnN-GUU_rps12 | AVG | 889,06 | 15 | 4,72 | 915,333 | 17 | 5,55 | 908,6 | 18 | 6,28 |
| | | SD | 5,650 | 0,498 | 0,05 | 25,577 | 0,94 | 0,03 | 11,35 | 0,92 | 0,06 |
| | rrn4.5_rps12 | AVG | 1200,66 | 21 | 5,82 | 1194,0 | 21 | 6,77 | 1194,0 | 21 | 7,50 |
| | | SD | 2,981 | 0 | 0,016 | 0 | 0 | 0,02 | 0 | 0 | 0,04 |
| | rrn5_rrps12 | AVG | 2188,0 | 11,23 | 9,32 | 2254,93 | 10 | 11,22 | 2253,46 | 9 | 12,11 |
| | | SD | 10,70 | 1 | 0,019 | 41,56 | 0,88 | 0,12 | 30,56 | 0,94 | 0,03 |
| | psbT_pbf1 | AVG | 1240,4 | 21 | 6,068 | 1254,66 | 22 | 7,26 | 1237,66 | 21 | 7,95 |
| | | SD | 11,55 | 0,47 | 0,031 | 24,37 | 1,62 | 0,03 | 27,48 | 0,87 | 0,08 |
| | psl33_rps18 | AVG | 30085,86 | 8 | 60,77 | 30066,0 | 7 | 71,54 | 30022,53 | 7 | 77,54 |
| | | SD | 94,83 | 0,47 | 0,38 | 78,12 | 0,33 | 0,17 | 28,09 | 0,44 | 0,25 |
| | Opuntia | AVG | 194472,0 | 871 | 94,49 | 194472 | 871 | 110,791 | 194472,0 | 871 | 121,01 |
| | | SD | 0 | 0 | 0,46 | 0 | 0 | 0,37 | 0 | 0 | 0,89 |

Çizelge 3. SA algoritmasında soğuma oranının farklı değerler almasıyla skor ve eşleşen sütun sayısının (Sütun E.) (ortalama ve standart sapma ile) değişimi

| Parametre | Veri Seti | Soğuma Oranı = 0,003 | | | Soğuma Oranı = 0,005 | | | |
|--------------|----------------|----------------------|----------|----------|----------------------|----------|------|-------|
| | | Skor | Sütun E. | Süre(sn) | Skor | Sütun E. | Skor | |
| Soğuma Oranı | trnN-GUU_rps12 | AVG | 915,33 | 17 | 5,55 | 908,13 | 17 | 3,31 |
| | | SD | 25,577 | 0,94 | 0,03 | 20,88 | 1,39 | 0,02 |
| | rrn4.5_rps12 | AVG | 1194,0 | 21 | 6,77 | 1194,0 | 21 | 4,10 |
| | | SD | 0 | 0 | 0,02 | 0 | 0 | 0,027 |
| | rrn5_rrps12 | AVG | 2254,93 | 10 | 11,22 | 2165,06 | 9 | 6,75 |
| | | SD | 41,56 | 0,88 | 0,12 | 15,38 | 0,74 | 0,02 |
| | psbT_pbf1 | AVG | 1254,66 | 22 | 7,26 | 1228,46 | 20 | 4,28 |
| | | SD | 24,37 | 1,62 | 0,03 | 20,51 | 0,65 | 0,01 |
| | psl33_rps18 | AVG | 30066,0 | 7 | 71,54 | 29996,2 | 7 | 42,72 |
| | | SD | 78,12 | 0,33 | 0,17 | 80,76 | 0,48 | 0,09 |
| | Opuntia | AVG | 194472 | 871 | 110,79 | 194472,0 | 871 | 66,43 |
| | | SD | 0 | 0 | 0,37 | 0 | 0 | 0,20 |

Performans Karşılaştırması: Clustal-SA algoritması, clustalW ve muscle

Uygun parametreler belirlendikten sonra, önerilen Clustal-SA algoritmasının performansını değerlendirmek amacıyla elde edilen hizalama skoru, sütun eşleşme sayısı ve çalışma süresi değerleri, çoklu dizi hizalama (MSA) problemlerinin çözümünde sıklıkla kullanılan ClustalW ve MUSCLE programlarıyla karşılaştırılmıştır.

Bu karşılaştırma, Clustal-SA'nın belirli parametreler altında nasıl performans gösterdiğini anlamamıza yardımcı olurken, aynı zamanda ClustalW ve MUSCLE gibi yaygın olarak kullanılan alternatif yöntemlerle karşılaştırarak Clustal-SA'nın etkinliğini ve uygunluğunu değerlendirmemize

olanak sağlar. Bu değerlendirme, çoklu dizi hizalama problemlerine yönelik en uygun çözümü belirlerken önemli bir rehber sağlar.

Çizelge 4'te, ClustalW ile önerilen Clustal-SA algoritması arasındaki karşılaştırma detaylı olarak sunulmuştur. Skor, eşleşen sütun ve çalışma süresi (ortalama ve standart sapma ile) başarı metriklerine göre karşılaştırma yapılmıştır. Bu karşılaştırma, her iki algoritmanın performansını ayrıntılı bir şekilde incelememize olanak sağlar ve en uygun hizalama aracını seçerken önemli bir rehber sağlar.

Çizelge 4. Clustal-SA algoritması, ClustalW ve MUSCLE programının skor, eşleşen sütun (sütun Eş.) ve çalışma zamanı (ortalama ve standart sapmayla) başarı metriklerine göre performanslarının karşılaştırılması

| Veri Seti | | Clustalw | | | MUSCLE | | | Clustal-SA | | |
|----------------|-----|----------|-----------|----------|--------|-----------|----------|------------|-----------|----------|
| | | Skor | Sütun Eş. | Süre(sn) | Skor | Sütun Eş. | Süre(sn) | Skor | Sütun Eş. | Süre(sn) |
| trnN-GUU_rps12 | AVG | 844 | 15 | 0,008 | 918 | 21 | 0,094 | 915,333 | 17 | 5,55 |
| | SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25,577 | 0,94 | 0,03 |
| rrn4.5_rps12 | AVG | 1194 | 21 | 0,007 | 1208 | 19 | 0,108 | 1194 | 21 | 6,77 |
| | SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,02 |
| rrn5_rrps12 | AVG | 2044 | 8 | 0,007 | 2350 | 14 | 0,133 | 2254,93 | 10 | 11,22 |
| | SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 41,56 | 0,88 | 0,12 |
| psbT_pbf1 | AVG | 1046 | 17 | 0,006 | 1000 | 23 | 0,047 | 1254,66 | 22 | 7,26 |
| | SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24,37 | 1,62 | 0,03 |
| psl33_rps18 | AVG | 29780 | 7 | 0,029 | 28252 | 7 | 0,298 | 30066 | 7 | 71,54 |
| | SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 78,12 | 0,33 | 0,17 |
| Opuntia | AVG | 194472 | 871 | 0,293 | 194632 | 871 | 0,771 | 194472 | 871 | 110,791 |
| | SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,37 |

Önerilen Clustal-SA algoritması, ClustalW çoklu dizi hizalama programına göre trnN-GUU_rps12, rrn5_rps12, psbT_pbf1 ve psl33_rps18 veri setlerinde hizalama skoru ve sütun eşleşmesi performans değerlendirme kriterlerine göre daha iyi bir performans göstermiştir. Ancak, Rrn4.5_rps12 ve Opuntia veri setlerinde her iki algoritma da aynı hizama skoru ve sütun eşleşme sayısını sağlamıştır.

Önerilen Clustal-SA algoritması, ClustalW çoklu dizi hizalama programına göre trnN-GUU_rps12, rrn5_rps12, psbT_pbf1 ve psl33_rps18 veri setlerinde daha iyi bir hizalama skoru ve daha fazla sütun eşleşmesi sağlamıştır. Ancak, Rrn4.5_rps12 ve Opuntia veri setlerinde her iki algoritma da benzer hizalama skoru ve sütun eşleşme sayısı elde etmiştir.

MUSCLE programına göre, Clustal-SA algoritması psbT_pbf1 ve psl33_rps18 veri setlerinde daha yüksek bir hizalama skoru sağlamıştır. Ayrıca, rrn4.5_rps12 veri setinde daha iyi bir sütun eşleşmesi elde edilmiştir. Bununla birlikte, trnN-GUU_rps12, rrn4.5_rps12 ve psl33_rps18 veri setlerinde MUSCLE'in daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir, ancak Clustal-SA algoritması çok benzer sonuçlar vermiştir.

Bu durum, Clustal-SA'nın belirli veri setlerinde MUSCLE'dan daha iyi performans gösterebileceğini, ancak genel olarak her iki algoritmanın da benzer hizalama kalitesi sağladığını göstermektedir. Bu bulgular, belirli veri setleri veya gereksinimlere bağlı olarak en uygun hizalama aracını seçerken dikkate alınabilir.

Çalışma süresi performansına göre, ClustalW programı, MUSCLE ve Clustal-SA algoritmalarına kıyasla her bir veri seti için en iyi sonucu vermiştir. Bu durumun temel nedeni, ClustalW programında kullanılan Clustal algoritmasının açgözlü yaklaşımı benimsemesidir. Açgözlü yaklaşım, hizalama yaparken mevcut durumu değerlendirerek bir sonraki en iyi adımı seçer, bu da genellikle daha hızlı çalışma süresi sağlar.

Bu sonuçlar, Clustal-SA algoritmasının belirli veri setlerinde ClustalW ve MUSCLE'a kıyasla daha iyi performans gösterdiğini, ancak çalışma süresi açısından ClustalW'nin daha etkili olduğunu

göstermektedir. İleriki çalışmalarda bu algoritmaların avantajları ve dezavantajları daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilir.

SONUÇ

Bu çalışma, biyolojik dizilerin analizi ve yorumlanması için Clustal ve Simulated Annealing (SA) algoritmalarını birleştiren bir hibrit yaklaşım olan Clustal-SA algoritmasının performansını değerlendirmiştir. Çalışmanın ana hedefi, çoklu dizi hizalama probleminin çözümü için daha etkili bir çözüm sunmaktır.

Çalışmanın sonuçları, Clustal-SA algoritmasının belirli veri setlerinde ClustalW programından daha iyi hizalama skoru ve sütun eşleşmesi performansı sergilediğini göstermektedir. Ayrıca, MUSCLE programına göre bazı veri setlerinde daha başarılı olduğu veya benzer sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Bu sonuçlar, önerilen hibrit algoritmanın, belirli gen dizilerinin analizi konusunda güvenilir sonuçlar elde etmede etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Ayrıca, farklı uzunluktaki dizi veri setlerinde elde edilen benzer sonuçlar, Clustal-SA algoritmasının geniş bir genetik çeşitlilik içeren veri setlerine uygulanabilirliğini vurgulamaktadır.

Çalışmanın gelecekteki yönlendirmeleri arasında, Clustal-SA algoritmasındaki SA algoritmasının mutasyon işlemlerinin optimize edilmesi ve farklı dizi uzunluklarına sahip veri setlerinde daha iyi performans elde etmek için dikkatlice ayarlanması önerilmektedir. Ayrıca, çalışma süresini azaltmak için paralel programlama kullanılması da göz önünde bulundurulmalıdır.

Sonuç olarak, bu çalışma biyoinformatik alanında otomatikleştirilmiş ve etkili çoklu dizi hizalama yöntemleri üzerine odaklanmıştır. Önerilen Clustal-SA algoritması, genetik veri analizi ve karşılaştırmalarında daha hassas sonuçlar elde etme potansiyeline sahiptir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi BAP koordinatörlüğü tarafından FOA-2020-20981 kodlu “Cicer ve Lens türlerinin kloroplast DNA dizilerinin Next Generation Sequencing ile sekanslanması ve genom organizasyonlarının belirlenerek karşılaştırmalı genom analizlerinin gerçekleştirilmesi” isimli proje kapsamında desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

Yazar Katkısı

Araştırma ve makale için fikir ya da hipotezin oluşmasında Hatice Erdirik ve Hasan Bulut katkı sağlamıştır. Sonuçlara ulaşmak için yöntemleri araştıran ve planlayan Hatice Erdirik'tir. Proje ve makalenin organizasyonu ve seyrinin gözetimi ve sorumluluğu Abdullah Ammar Karcıoğlu'ndadır. Veri toplama adımı Muhammed Bahattin Tanyolaç katkı sağlamıştır. Verilerin işlenmesi ve analizi konusunda Abdullah Ammar Karcıoğlu katkı sağlamıştır. Çalışma sonucu elde edilen sonuçların analizi ve yorumlanması kısmında Hatice Erdirik, Abdullah Ammar Karcıoğlu ve Hasan Bulut katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Aarts, E. H., & van Laarhoven, P. J. (1987). Simulated annealing: a pedestrian review of the theory and some applications. In *Pattern recognition theory and applications* (pp. 179-192). Springer Berlin Heidelberg. Doi: 10.1007/978-3-642-83069-3_15

- Aktan, M. N., & Bulut, H. (2022). Metaheuristic task scheduling algorithms for cloud computing environments. *Concurrency and Computation: Practice and Experience*, 34(9), e6513. Doi: 10.1002/cpe.6513
- Botta, M., & Negro, G. (2010). Multiple sequence alignment with genetic algorithms. In *Computational Intelligence Methods for Bioinformatics and Biostatistics: 6th International Meeting, CIBB 2009, Genoa, Italy, October 15-17, 2009*. Springer Berlin Heidelberg. Doi: 10.1007/978-3-642-14571-1_15
- Bucak, İ. Ö., & Uslan, V. (2011). Sequence alignment from the perspective of stochastic optimization: a survey. *Turkish Journal of Electrical Engineering and Computer Sciences*, 19(1), 157-173. Doi: 10.3906/elk-1002-410
- Chen J.T, Chao J.N, Liu H., Yang F.L., Zou Q. & Tang F.R, (2023) WMSA 2: a multiple DNA/RNA Sequence alignment tool implemented with accurate progressive mode and a fast win-win mode combining the center star and progressive strategies, *Briefings in Bioinformatics*, Volume: 24, Issue:4, Doi :10.1093/bib/bbad190
- Cohen, J. (2004). *Bioinformatics—an introduction for computer scientists*. *ACM Computing Surveys (CSUR)*, 36(2), 122-158. Doi: 10.1145/1031120.1031122
- Diamantis, S., & Anna, C. (2005). Comparison of multiple sequence alignment programs. National and Kapodistrian university of Athens.
- Doğan, H., & Otu, H., (2014) *Multiple Sequence Alignment Methods: Objective Function*, Springer Protocols, Chapter 3, 44-85p
- Edgar, R.C., (2004), MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput, *Nucleic Acids Research*, 200, vol.32, No.5, DOI: 10.1093/nar/gkh340
- Edgar, R.C., Batzoglou, S., (2006) Multiple sequence alignment, *Current Opinion in Structural Biology* 2006, 16:368–373, Elsevier
- Haque, W., Aravind, A., & Reddy, B. (2009, March). Pairwise sequence alignment algorithms: a survey. In *Proceedings of the 2009 conference on Information Science, Technology and Applications* (pp. 96-103). Doi: 10.1145/1551950.1551980
- Karcioglu, A. A., & Bulut, H. (2022). DNA sekansları için q-gram hash karşılaştırmasına dayalı çoklu kesin dizi eşleştirme algoritması. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 38(2), 875-888. Doi: 10.17341/gazimmfd.951157
- Karcioglu, A. A., & Bulut, H. (2021). Improving hash-q exact string matching algorithm with perfect hashing for DNA sequences. *Computers in Biology and Medicine*, 131, 104292. Doi: 10.1016/j.combiomed.2021.104292
- Karcioglu, A. A., & Bulut, H. (2021). The WM-q multiple exact string matching algorithm for DNA sequences. *Computers in Biology and Medicine*, 136, 104656. Doi: 10.1016/j.combiomed.2021.104656
- Karcioglu, A. A., & Bulut, H. (2022). q-frame hash comparison based exact string matching algorithms for DNA sequences. *Concurrency and Computation: Practice and Experience*, 34(9), e6505. Doi: 10.1002/cpe.6505
- Lee, Z. J., Su, S. F., Chuang, C. C., & Liu, K. H. (2008). Genetic algorithm with ant colony optimization (GA-ACO) for multiple sequence alignment. *Applied Soft Computing*, 8(1), 55-78. Doi: 10.1016/j.asoc.2006.10.012
- Likic, V. (2008). The Needleman-Wunsch algorithm for sequence alignment. Lecture given at the 7th Melbourne Bioinformatics Course, Bi021 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, 1-46.

- Luscombe, N. M., Greenbaum, D., & Gerstein, M. (2001). What is bioinformatics? An introduction and overview. *Yearbook of medical informatics*, 10(01), 83-100. Doi: 10.1055/s-0038-1638103
- Major Differences, Difference between Global and Local Sequence Alignment, <https://www.majordifferences.com/2016/05/differencebetween-global-and-local.html>, Access Date: 28.12.2022.
- Mirjalili, S. (2019). Evolutionary algorithms and neural networks. In *Studies in computational intelligence* (Vol. 780). Berlin/Heidelberg, Germany: Springer.
- Omar, M.F., Salam, R.A., Abdullah, R. & Rashid, N.A (2004). Multiple Sequence Alignment Using Optimization Algorithms, *International Journal of Computational Intelligence* Volume 1 Number 2
- Pais, F. S. M., Ruy, P. D. C., Oliveira, G., & Coimbra, R. S. (2014). Assessing the efficiency of multiple sequence alignment programs. *Algorithms for molecular biology*, 9, 1-8. Doi: 10.1186/1748-7188-9-4
- Paruchuri T., Kancharla G.R. & Dara S. (2023). Solving multiple sequence alignment problems by using a swarm intelligent optimization based approach, *International Journal of Electrical and Computer Engineering (IJECE)*, Vol. 13, No. 1, February 2023, pp. 1097-1104
- Russel and Norvig. (2010). *Artificial intelligence: a modern approach*, Global Edition. Harlow, Essex, England: Pearson Educatio.
- Smith, T. F., & Waterman, M. S. (1981). Identification of common molecular subsequences. *Journal of molecular biology*, 147(1), 195-197.

Atf İçin: Uruç, B. ve Bozdoğan, O. (2024). Diyarbakır İlinde Mercimek Ürününe Karışan Yabancı Ot Tohumlarının Belirlenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 563-593.

To Cite: Uruç, B. & Bozdoğan, O. (2024). Determination of Weed Seeds in Lentil Product in Diyarbakır Province. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 563-593.

Diyarbakır İlinde Mercimek Ürününe Karışan Yabancı Ot Tohumlarının Belirlenmesi

Berat URUÇ¹, Olcay BOZDOĞAN^{1*}

Öne Çıkanlar:

- Mercimek ürününe karışan çok yaygın tür olarak *Galium tricornutum* Dandy olarak belirlenmiştir.
- 1 kg mercimek ürününe 53.110 g yabancı ot tohumunun karıştığı belirlenmiştir
- Sertifikalı tohumluk kullanılması önerilmiştir

Anahtar Kelimeler:

- Diyarbakır
- Mercimek
- Ürüne karışma
- Yabancı ot tohumu

ÖZET:

Çalışma Diyarbakır ilinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarını belirlemek amacıyla 2019-2020 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Diyarbakır iline bağlı Merkez ve merkeze uzak olan toplam 14 ilçede 150 tarım işletmesinden hasat sonrası depolanmış mercimek ürününden birer kilogramlık mercimek numuneleri alınmıştır. Mercimek numuneleri içerisindeki yabancı ot tohumları ve sağlam daneler birbirinden ayrılmış, daha sonra farklı gözenek çapına sahip elek sisteminden geçirilmiştir. Eleklere ayrılmadığı tohumlar tek tek elle seçilerek ayıklanmıştır. Daha sonra tohumlar tek tek sayılarak kayıt altına alınmıştır. Çalışma sonucunda, Diyarbakır ilinde mercimek ürününe 11 familyaya dahil 27 cinse ait 29 yabancı ot türünün tohumlarının karıştığı belirlenmiştir. Rastlama sıklıklarına göre çok yaygın (ÇY) olan türler sırasıyla Boynuzlu yoğurt otu (*Galium tricornutum* Dandy) (%98.00), Tarla düğün çiçeği (*Ranunculus arvensis* L.) (%92.66), Kendi gelen buğday (*Triticum* sp.), Pelemir (*Cephalaria syriaca* L.) (%72.66), Yabani hardal (*Sinapis arvensis* L.) (%67.33), Trakya hardalı (*Neslia apiculata* Fisch.) (%64.00) ve Duvar arpası (*Hordeum murinum* L.) (%62.66) olarak tespit edilmiştir. Mercimeğe karışan yabancı ot tohumları arasında ilk sırayı 774.78 adet/kg ile Serçe dili (*Stellaria media* (L.) Vill)'nin aldığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla Yabani hardal (*S. arvensis*) (365.67 adet/kg), Boynuzlu yoğurt otu (*G. tricornutum*) (364.42 adet/kg), Dilkanatan (*Galium aparine* L.) (331.12 adet/kg) ve *R. arvensis* (320.67 adet/kg) takip etmiştir. Ürüne karışma miktarı ve karışma oranı bakımından ilk sırayı *S. media* (9.84 g/kg ve %0.98) almakta ve bunu sırasıyla *G. tricornutum* (7.09 g/kg ve %0.70), *R. arvensis* (6.67 g/kg ve %0.66) ve *G. aparine* (5.56 g/kg ve %0.55) türleri izlemiştir. 1000 g mercimek ürünü içinde ortalama 2615.793 adet yabancı ot tohumu ve bunların ortalama ağırlığının 53.110 (%5.448) g/kg olduğu saptanmıştır. Üreticilere yabancı ot tohumlarından ari sertifikalı tohumluk ve herbisite toleran mercimek çeşitleri kullanmaları tavsiye edilmektedir.

Determination of Weed Seeds in Lentil Product in Diyarbakır Province

ABSTRACT:

The study was carried out in 2019-2020 to determine the weed seeds mixed with lentils in Diyarbakır province. For this purpose, one kilogram lentil samples were taken from lentil products stored after harvest from 150 agricultural enterprises in the center of Diyarbakır province and 14 districts far from the center. Weed seeds and intact grains in the lentil samples were separated from each other and then passed through a sieve system with different pore diameters. The seeds that the sieves could not distinguish were hand-selected one by one. Then the seeds were counted one by one and recorded. In the results of working, it was identified that the seeds of 29 weed species including to 27 genera from 11 families were mixed into the lentil product in Diyarbakır province. According to their frequency of occurrence, the species that are very common (ÇY) are Rough bedstraw (*Galium tricornutum* Dandy) (98.00%), Field buttercup (*Ranunculus arvensis* L.) (92.66%), Voluntary wheat (*Triticum* sp.), Syrian scabious (*Cephalaria syriaca* L.) (72.66%), Wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) (67.33%), Ball mustard (*Neslia apiculata* Fisch.) (64.00%) and Wall barley (*Hordeum murinum* L.) (62.66%). It was determined that Chickweed (*Stellaria media* (L.) Vill) took the first place among weed seeds mixed with lentils with 774.78 pieces/kg. This is followed by Wild mustard (*S. arvensis*) (365.67 pieces/kg), Rough bedstraw (*G. tricornutum*) (364.42 pieces/kg), Catchweed bedstraw (*Galium aparine* L.) (331.12 pieces/kg) and Field buttercup (*R. arvensis*) (320.67 pieces/kg). Chickweed (*S. media*) takes the first place in terms of density (9.84 g/kg) and frequency (0.98%) in lentil crop, followed by Rough bedstraw (*G. tricornutum*) (7.09 g/kg and 0.70%), Field buttercup (*R. arvensis*) (6.67 g/kg and 0.66%) and Catchweed bedstraw (*G. aparine*) (5.56 g/kg and 0.55%) species, respectively. It was determined that there was an average of 2615.793 weed seeds in 1000 g of lentil product and their average weight was 53.110 (5.448%) g/kg. Producers are advised to use certified seeds free from weed seeds and herbicide tolerant lentil varieties.

Highlights:

- The most common species mixed into lentil products was identified as *Galium tricornutum* Dandy
- It was determined that 53.110 g of weed seeds were mixed into 1 kg of lentil product
- It is recommended to use certified seeds

Keywords:

- Diyarbakır
- Lentil
- Contaminated
- Weed seed

¹Berat URUÇ (Orcid ID: 0000-0002-1570-6108), OlcayBOZDOĞAN (Orcid ID: 0000-0001-6636-805X), Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Malatya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Olcay BOZDOĞAN, e-mail: olcay.bozdogan@ozal.edu.tr

Bu çalışma Berat Uruç'un Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusu birtakım sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu sorunların başında gıda sorunu gelmektedir. İnsan hayatında önemli bir konumda olan beslenme artan dünya nüfusuyla birlikte sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsanların günlük yaşamda tükettiği gıda maddeleri içerisinde bulunan baklagiller önemli bir yere sahiptir. Başlıca baklagil türleri arasında mercimek, bezelye, nohut, fasulye, bakla, börülce ve soya bulunmaktadır. Bu türler arasında geçmişten günümüze insan beslenmesinde tüketilen mercimek (*Lens culinaris* Medik.), zengin bitkisel proteinler içermesi nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Ayrıca samanının yüksek besin içeriğine sahip olması ile hayvan beslenmesinde de önem taşımaktadır (Şehirali, 1988; Pekşen ve Artık, 2005; Urbano ve ark., 2007).

Dünya genelinde mercimek üretim alanı ve üretim miktarı açısından FAO verilerine göre 2020 yılında dünya mercimek üretimi 5 milyon hektar alanda 6.5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Dünya mercimek üretiminde 2020 yılı itibarıyla 2.9 milyon ton üretim miktarı ile Kanada ilk sırada yer alırken, 1.2 milyon ton üretim ile Hindistan ikinci sırada, 526 bin ton üretim ile Avustralya üçüncü sırada, 371 bin ton ile Türkiye dördüncü sırada yer almaktadır. Dünya toplam mercimek üretiminin %74.1'1 bu dört ülke tarafından karşılanmaktadır. 2020 yılı mercimek ekim alanlarında ise; 1.7 (%34.0) milyon ha ile Kanada birinci sırada yer alırken, 1.4 (%27) milyon ha ile Hindistan ikinci 412 (%8.2) bin ha ile Avustralya üçüncü, 248 (%4.9) bin ha ile Türkiye dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2022).

Mercimek soğuğa ve kurağa dayanıklı, fakir topraklarda yetişebilen bir baklagil bitkisi olarak, ekim nöbetinin uygulanabildiği kurak bölgelerde, verimi arttırmada ve nadas alanlarını azaltmada değerli bir yeri vardır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde hububatla ekim nöbetine girerek geniş alanlarda tarımı yapılmaktadır. Türkiye mercimek üretimi 2020/21 üretim dönemine göre incelendiğinde; üretim alanlarının %85'ini ve üretimin %89'unu, ithalat ve ihracatın %90'unu ve kişi başına tüketimin %87'sini kırmızı mercimek oluşturmaktadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi kırmızı mercimek üretim alanı 2441000 da üretimi ise 215000 ton ile ilk sırada yer almaktadır (TÜİK, 2022). Ülkemiz kırmızı mercimek üretiminin tamamına yakını Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nden karşılanmakta olup bölge illerinin çoğu verim olarak ülke ortalamasının üzerindedir. Bölgede 576000 da mercimek alanına sahip olan Diyarbakır, mercimek üretim alanı bakımından Türkiye'de ikinci sırada yer almaktadır ve %22 lik bir üretim alanına sahiptir. Bölge bazında mercimek üretim alanlarını incelediğimizde %45 ile Şanlıurfa ilk sırada yer almaktadır. 2. sırayı %22 ile Diyarbakır, Mardin ise %7 ile 3. sırada yer almaktadır. Mercimek üretim alanlarının büyük çoğunluğu bu illerden karşılamakta olup diğer iller ise toplamda %26 lık bir üretim alanına sahiptir (TUİK, 2022)

Tarımsal üretim yaparken yetiştirilen ürünlerin kalitesini ve verimini etkileyen bitki koruma problemleri karşımıza çıkmaktadır. Bu problemlerin başında yabancı ot sorunu gelmektedir. (Tepe, 1997). Diğer üretim aşamalarında olduğu gibi mercimek üretiminde de yabancı otlar kültür bitkisi ile rekabete girmesinin yanı sıra diğer zararlı böcek ve patojenlere hem ana konukçuluk hem de ara konukçuluk yapmaktadır (Sönmez, 1976; Özaslan, 2011). Mercimek bitki boyunun kısa, ilk gelişme döneminde büyümesinin yavaş ve kaplama alanın az olması nedeniyle yabancı otlarla rekabeti çok zayıftır (Mohamed ve ark., 1997; Elkoca ve ark., 2005). Yabancı otlar erken dönemde besin, su ve ışık için mercimek ile rekabet ederek ürünün verim ve kalitesini düşürür (Turk ve Tawana, 2003; Bükün ve Güler, 2005; Bükün ve Kahraman, 2014). Mercimek tarlalarında yabancı otlardan dolayı %20-80 arasında verim kaybı oluşmaktadır (Beniwal ve ark., 1995; Yenish ve ark., 2009).

Türkiye'nin ekolojik farklılık gösteren yerlerinde mercimek üretiminde problem olan yabancı otların tespit edilmesi için fazla miktarda çalışma yapılmıştır (Zengin ve Döken, 1991; Uludağ ve Demir, 1997; Tepe ve ark., 2002; Elkoca ve ark., 2005; Bukun ve Guler, 2005; Erman ve ark., 2008; Kordali ve Zengin, 2009a; Temel ve ark., 2012; Aksoy ve ark., 2014; Özaslan ve ark., 2017; Arslan ve ark., 2017; Pala ve ark., 2018a; Sırrı, 2020). Türkiye'de mercimek üretiminde genelde yaygın olarak sorun olan yabancı otların; *A. sterilis*, *C. syriaca*, *R. arvensis*, *G. aparine*, *S. arvensis*, *T. aestivum*, *V. hispanica* ve *Vicia* spp. türleridir (Özer ve ark., 2001; Bukun ve Guler, 2005; Tepe, 2014; Arslan ve ark., 2017; Özaslan ve ark., 2017; Ballı, 2018; Sırrı, 2020).

Tarımsal üretimin önemli boyutlarda gerçekleştiği Güneydoğu Anadolu Bölgesi, tarımsal araştırmalar yönünden birçok probleme sahip bölgelerden biridir. Konuyu yabancı otlar yönünden değerlendirdiğimizde bölgedeki çiftçiler tarım alanında sorun olan yabancı ot türlerini iyi bilmemekte bu sebeple yabancı ot mücadelesini de başarılı bir şekilde yapamamaktadır. Mercimek alanlarında sorun olan yabancı otlarla mücadelede herbisit kullanımını tercih etmektedirler. Ancak herbisitlerin yarattığı olumsuz etkilerden dolayı kimyasal mücadeleye alternatif kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi ve bu durumun üzerine gidilmesi gerekmektedir (Özaslan, 2011). Diyarbakır'da mercimek tarlalarında yabancı otların önemli boyutlarda verim kayıplarına sebep olduğu ve buna karşı uygun ve doğru yabancı ot mücadelesinin yapılamadığı, bu durumdan dolayı da Diyarbakır ili ekonomisinde önemli paya sahip olan mercimek üretiminde yabancı ot sorunu gün geçtikçe artmıştır. Bu nedenle mercimek alanlarında sorun teşkil eden yabancı ot türleri belirlenerek etkili yabancı ot kontrol stratejilerinin oluşturulması, mücadelesindeki yöntemlerin iyileştirilmesi ve alternatif mücadele yöntemlerin araştırılması faydalı olacaktır (Pala ve ark., 2018a). Diyarbakır İlinde buğday ürününe bir çok yabancı ot tohumunun karıştığı (Pala ve ark., 2018b) ve buğday ve mercimeğin birbirinin yerine ekim sisteminde ekildiği bilinmektedir. Bu amaçla Diyarbakır ilinde mercimek üretim alanlarında mercimek ürününe karışan yabancı ot tohumları belirlenerek, bu tohumların yaygınlık, yoğunluk, % karışım ve ağırlıkları saptanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın ana materyalini Diyarbakır il ve ilçelerinin 150 ayrı noktasından 2019 yılında toplanan mercimek numuneleri içerisinde bulunan yabancı ot tohumları oluşturmuştur. Örneklem sayıları belirlenirken her ilçede toplam ekiliş alanına göre "tartılı ortalama yöntemi" (Bora ve Karaca, 1970) esas alınarak hesaplanmıştır.

Diyarbakır ilinin Kayapınar, Bağlar, Sur, Yenişehir olmak üzere 4 merkez ilçesi Ergani, Bismil, Silvan, Çınar, Lice, Çüngüş, Çermik, Eğil, Dicle, Kulp, Hazro, Hani, Kocaköy olmak üzere toplam 17 ilçesi bulunmaktadır. Lice, Çüngüş ve Kulp ilçelerinde mercimek yetiştiriciliği fazla yapılmadığından dolayı çalışma dışında bırakılmış olup çalışma bu üç ilçe dışındaki toplam 14 ilçede 2019 yılında yürütülmüştür. Diyarbakır ilinin dört merkez ilçesinden toplamda 45 örnek alınmıştır. Bu ilçelerden olan Sur'dan 20, Bağlar ve Kayapınar'dan 10'ar olmak üzere 20, Yenişehir'den ise 5 örnek alınarak çalışma yürütülmüştür (Çizelge 1).

İl bazında yapılan çalışmada mercimek numuneleri alınırken alındığı ilçe/köy, tarih ve çiftçi isimleri etiketlere not edilmiştir. Birer kilogramlık alınan örnekler 4 tekerrür şeklinde 250'şer g tartılarak her bir ilçeyi kendi içerisinde temsil edecek şekilde oluşturulmuştur. Üretimin yapıldığı alanlardan toplanan mercimek numuneleri içerisindeki yabancı ot tohumları ve sağlam daneler birbirinden ayrılmış, daha sonra farklı gözenek çapına sahip elek sistemlerinden geçirilmiştir (Şekil 1).

Eleklerin ayırt edemediği tohumlar tek tek elle seçilerek ayıklanmıştır. Ayıklanan yabancı ot tohumlarının her bir türü farklı farklı poşetlere konulmuştur. Daha sonra tohumlar tek tek sayılarak

kayıt altına alınmıştır. Ayıklanan yabancı ot tohumlarının hangi türe ait olduğu 2020 yılında Diyarbakır Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (DZMAEM)'nin Herboloji Laboratuvarına getirilmiş ve teşhis edilmek üzere incelenmiştir. Ayrıca Malatya Turgut Özal ve Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Herboloji Laboratuvarlarında bulunan yabancı ot tohum koleksiyonları incelenerek yabancı ot teşhisleri yapılmıştır. Teşhis edilen yabancı ot tohumlarının elle sayımı yapılarak hassas terazide yapılan tartımlarla kayıt altına alınmıştır.

Çizelge 1. Diyarbakır ili 2018 yılı mercimek ekim alanına göre 2019 yılında örnekleme yapılan yerler ile örnek miktarları

| İlçeler | Ekim alanı (da)* | Alınan Örnek Miktarı |
|-----------|------------------|----------------------|
| Bismil | 201300 | 20 |
| Bağlar | 16200 | 10 |
| Silvan | 160000 | 20 |
| Sur | 156000 | 20 |
| Çınar | 34000 | 10 |
| Ergani | 54000 | 20 |
| Çermik | 15000 | 10 |
| Kayapınar | 12000 | 10 |
| Dicle | 4340 | 5 |
| Eğil | 4107 | 5 |
| Hani | 6500 | 5 |
| Hazro | 5500 | 5 |
| Kocaköy | 9350 | 5 |
| Yenişehir | 2815 | 5 |

* 2018 yılı ekim alanları Diyarbakır Tarım ve Orman İl Müdürlüğü'nden alınmıştır.



Şekil 1. Mercimek örneklerinin ayıklanma yöntemi

Çalışma sonunda ortaya çıkan değerler alınan örnek miktarına oranlanılarak % karışım oranları tespit edilmiştir (Tursun, 1995; Kantarcı, 2004). Yabancı ot türlerinin il içindeki tohum yaygınlık yüzdeleri hesaplanmıştır. Toplanan örneklerde görülen yabancı ot tohumlarının ne kadar sıklıkla görüldüğü sayılarak hesaplanmış ve aritmetik yüzde sistemi esas alınarak bu oranlar elde edilmiştir (Baş, 2011). Çalışmada yabancı ot türlerine ait tohumların rastlama sıklıkları aşağıdaki belirtilen formülle elde edilmiştir (Odum, 1971):

$$RS. (\%) = M / N \times 100$$

RS.: Yabancı ot tohumunun rastlanma sıklığı.

N: 1'er kg'lık alınan mercimek örnek adedi.

M: Yabancı ot tohumunun rastlandığı örnek adedi.

Çalışma sonunda her bir yabancı ot türünün il içerisindeki yaygınlıkları tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre Diyarbakır il genelinde mercimek ürününe karışan yabancı ot tohumları belirlenmiştir. Tespiti yapılan yabancı ot tohumlarının yaygınlık durumunun hesaplanması Pamukoğlu (2011) tarafından uyarlanmış olan aşağıdaki değerlendirme skalasıyla yapılmıştır.

ÇY = Çok Yaygın > %50.00

Y = Yaygın %25.00 ile %49.90 arası

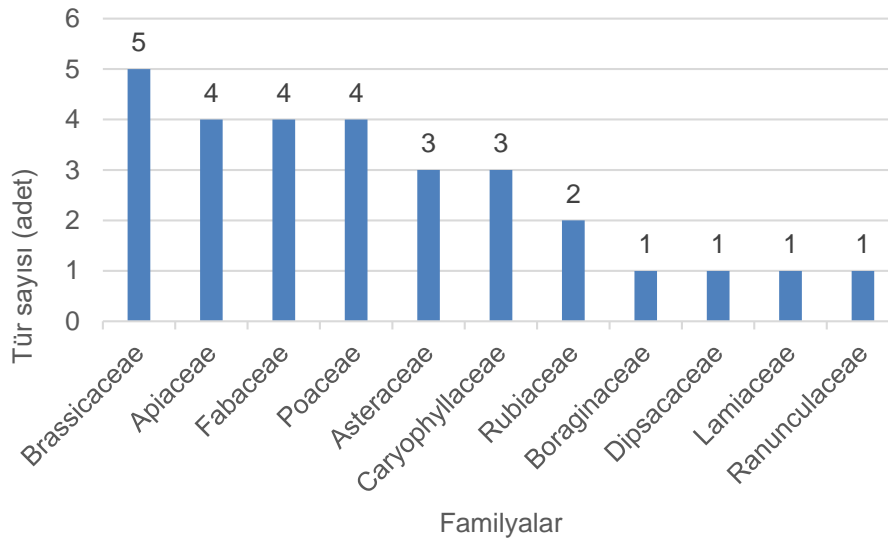
Ö = Önemli %10.00 ile %24.90 arası

N = Nadir < %9.90

BULGULAR VE TARTIŞMA

Diyarbakır İli Mercimeğe Karışan Yabancı Ot Tohumları

Yapılan çalışma sonucunda Diyarbakır il genelinde biri monokotiledon (Poaceae), 10 tanesi dikotiledon (Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Boraginaceae, Caryophyllaceae, Dipsacaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Ranunculaceae, Rubiaceae) olmak kaydıyla 11 familya içerisinde 27 cinse ait 29 yabancı ot türü tespit edilmiştir. Yapılan teşhisler sonucunda Brassicaceae 5 tür, Apiaceae, Poaceae ve Fabaceae 4'er tür, Asteraceae ve Caryophyllaceae 3'er tür, Rubiaceae 2 tür, Boraginaceae, Dipsacaceae, Lamiaceae ve Ranunculaceae 1'er türü içermektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Diyarbakır ili mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının familyaları

Diyarbakır il genelinde mercimek ürününe karışan yabancı ot tohumlarını yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 7 tür belirlenmiştir. Bu türlerin sırasıyla *G. tricornutum* %98.00 (Şekil 3a), *R. arvensis* %92.66 (Şekil 3b), *Triticum* sp. (Şekil 3c) ve *C. syriaca* %72.66 (Şekil 3d), *S. arvensis* %67.33 (Şekil 3e), *N. apiculata* %64 (Şekil 3f) ve *H. murinum* %62.66 (Şekil 3g) oranında yaygın olduğu belirlenmiştir. Mercimeğe karışan diğer yabancı ot türlerinin yaygınlıkları da %50'nin aşağısında tespit edilmiştir (Çizelge 2).

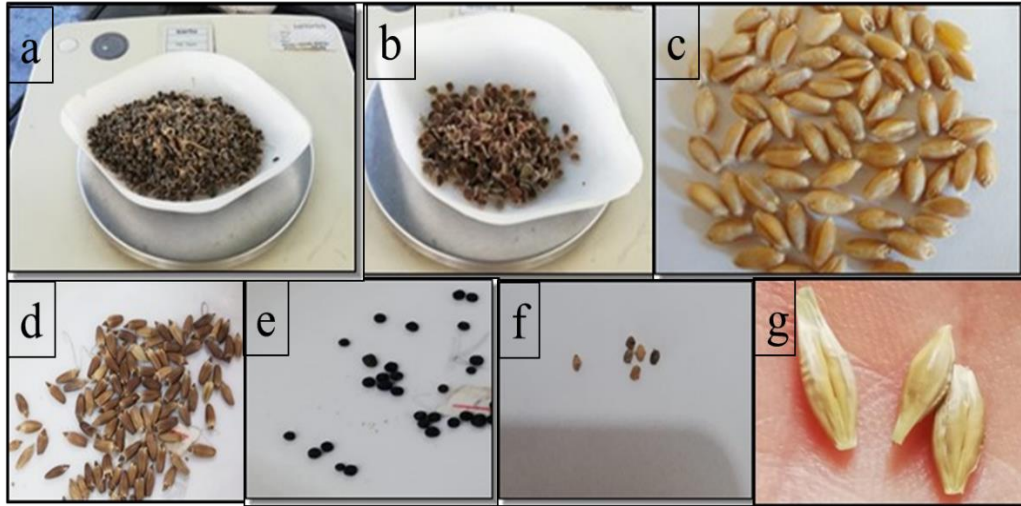
Yaygın (Y, %25.0 - %49.9) düzeyinde 2 tür bulunmakta olup *G. aparine* %35.71 ve *L. strigosa* %28.00'dir. Önemli (Ö, %10.0-%24.9) düzeyinde 3 yabancı türü bulunmakta olup bunlar sırasıyla *Avena* spp. %20.00, *L. iberica* %16.00 ve *A. githago* %11.33'dür. Nadir olarak görülen yabancı ot sınıflandırmasında ise 18 tür bulunmakta olup en az rastlanan türler ise %0.66 oranıyla *L. temulentum*, *S. pecten-veneris*, *Tordylium* spp., *C. depressa*, *Chorispora* sp., *C. orientalis*, *M. perfoliatum* ve *Pisum* spp.'dur (Çizelge 2).

Çizelge 2. Diyarbakır ili mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının türleri, karışma miktarı ve oranları ile rastlama sıklıkları

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 20.00 | 0.136 | 1.366 | 33.406 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 62.66 | 0.430 | 4.306 | 99.256 | ÇY |
| <i>Lolium temulentum</i> L. (Delice) | 0.66 | 0.001 | 0.017 | 0.106 | N |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 72.66 | 0.313 | 3.132 | 37.614 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 28.00 | 0.104 | 1.043 | 8.513 | Y |
| <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (Zühre tarağı) | 0.66 | 0.003 | 0.034 | 0.293 | N |
| <i>Tordylium</i> spp. (Geyik otları) | 0.66 | 0.003 | 0.033 | 0.053 | N |
| <i>Turgenia latifolia</i> L. Hoffm. (Pıtrak) | 4.00 | 0.015 | 0.156 | 0.966 | N |
| Fam: Asteraceae | | | | | |
| <i>Centaurea depressa</i> Bieb. (Yatık Gökbaş) | 0.66 | 0.002 | 0.025 | 0.060 | N |
| <i>Centaurea</i> sp. (Sarıdiken) | 2.00 | 0.010 | 0.104 | 0.440 | N |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 6.66 | 0.026 | 0.264 | 1.733 | N |
| Fam: Brassicaceae | | | | | |
| <i>Chorispora</i> sp. (Suriye turpu) | 0.66 | 0.001 | 0.016 | 0.086 | N |
| <i>Crambe orientalis</i> L. (Akdeniz doğu lahanası) | 0.66 | 0.002 | 0.027 | 0.906 | N |
| <i>Myagrurn perfoliatum</i> L. (Gönül hardalı) | 0.66 | 0.001 | 0.016 | 0.046 | N |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 64.00 | 0.270 | 2.703 | 85.436 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 67.33 | 0.524 | 5.240 | 365.675 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 7.33 | 0.028 | 0.287 | 2.506 | N |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 11.33 | 0.089 | 0.892 | 34.616 | Ö |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 7.33 | 0.984 | 9.841 | 774.783 | N |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 8.66 | 0.045 | 0.452 | 26.643 | N |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 72.66 | 0.358 | 3.589 | 89.851 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Lathyrus</i> sp. (Mürdümük) | 2.66 | 0.018 | 0.182 | 8.797 | N |

Çizelge 2. Diyarbakır ili mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının türleri, karışma miktarı ve oranları ile rastlama sıklıkları (devamı)

| | | | | | |
|---|-------|--------------|---------------|-----------------|----|
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 8.00 | 0.032 | 0.324 | 8.369 | N |
| <i>Pisum</i> spp. (Bezelye türleri) | 0.66 | 0.005 | 0.051 | 0.533 | N |
| <i>Vicia</i> spp. (Fiğ türleri) | 3.33 | 0.018 | 0.181 | 3.833 | N |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberya lallemantı) | 16.00 | 0.067 | 0.677 | 14.269 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 92.66 | 0.667 | 6.670 | 320.678 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium aparine</i> L. (Dilkanatan) | 35.71 | 0.556 | 5.566 | 331.125 | Y |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 98.00 | 0.709 | 7.098 | 364.428 | ÇY |
| Diğerleri | 4.00 | 0.015 | 0.151 | 0.713 | N |
| GENEL TOPLAM | | 5.448 | 53.110 | 2615.793 | |

**Şekil 3.** Yaygınlıkları en çok olan yabancı ot türleri: a) *G. tricornutum* b) *R. arvensis* c) *Triticum* sp. d) *C. syriaca* e) *S. arvensis* f) *N. apiculata* g) *H. murinum* L.

Diyarbakır il genelinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk sırayı *S media* (9.841 g/kg ve %0.984) almaktadır. Bunu sırasıyla *G. tricornutum* (7.098 g/kg ve %0.709), *R. arvensis* (6.670 g/kg ve %0.667), *G. aparine* (5.566 g/kg ve %0.556), *S. arvensis* (5.240 g/kg ve %0.524), *H. murinum* (4.306 g/kg ve %0.430), *C. syriaca* (3.589 g/kg ve %0.358), *Triticum* sp. (3.132 g/kg ve %0.313), *N. apiculata* (2.703 g/kg ve %0.270), *Avena* spp. (1.366 g/kg ve %0.136), *L. strigosa* (1.043 g/kg ve %0.104), *A. githago* (0.892 g/kg ve %0.089), *L. iberica* (0.677 g/kg ve %0.067), *V. pyramidata* (0.452 g/kg ve %0.045), *Melilotus* sp. (0.324 g/kg ve %0.032), *B. arvensis*. (0.287 g/kg ve %0.028), *C. intybus* (0.264 g/kg ve %0.026), *Lathyrus* spp. (0.182 g/kg ve %0.018), *Vicia* spp. (0.181 g/kg ve %0.018), *T. latifolia* (0.156 g/kg ve %0.015) ve diğerleri (0.151 g/kg ve %0.015) şeklindedir (Çizelge 2).

En az karışma miktarı ve karışma oranı olarak bakıldığında sırasıyla *Pisum* sp. (0.051 g/kg ve %0.005), *S. pecten-veneris* (0.034 g/kg ve %0.003), *Tordylium* spp. (0.033 g/kg ve %0.003), *C. orientalis* (0.027 g/kg ve %0.002), *C. depressa* (0.025 g/kg ve %0.002), *L. temulentum* (0.017 g/kg ve %0.001), *M. perfoliatum* (0.016 g/kg ve %0.001), *Chorispora* sp. (0.016 g/kg ve %0.001) şeklindedir (Çizelge 2).

Bismil ilçesi

Diyarbakır ili Bismil ilçesinde alınan 20 mercimek numunesinde yapılan incelemeler sonucunda yabancı ot tohumlarının 11 familyaya ait 18 tür içerisinde yer aldığı belirlenmiştir.

Çizelge 3. Bismil ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 10.00 | 0.048 | 0.476 | 4.400 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 60.00 | 0.255 | 2.555 | 36.100 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 72.66 | 0.313 | 3.132 | 37.614 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 30.00 | 0.117 | 1.171 | 13.350 | Y |
| <i>Tordylium</i> spp. (Geyik otları) | 5.00 | 0.025 | 0.250 | 0.400 | N |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Centaurea depressa</i> Bieb. (Yatık Gökbaş) | 5.00 | 0.019 | 0.189 | 0.450 | N |
| <i>Centaurea</i> sp. (Saridiken) | 5.00 | 0.027 | 0.271 | 1.900 | N |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 5.00 | 0.026 | 0.258 | 1.200 | N |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 70.00 | 0.262 | 2.623 | 37.300 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 75.00 | 0.580 | 5.798 | 411.693 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 5.00 | 0.022 | 0.219 | 10.000 | N |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 10.00 | 0.041 | 0.409 | 19.700 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 75.00 | 0.274 | 2.739 | 22.700 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Lathyrus</i> sp. (Mürdümük) | 5.00 | 0.027 | 0.272 | 14.850 | N |
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 15.00 | 0.051 | 0.507 | 6.800 | Ö |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberyala lallemantı) | 15.00 | 0.069 | 0.687 | 0.950 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 95.00 | 0.387 | 3.867 | 92.500 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.587 | 5.871 | 251.281 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 3.188 | 31.878 | 988.274 | |

Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde çok yaygın olan 7 tür belirlenmiştir.

Bu türler *G. tricornutum* %100.00, *R. arvensis* %95.00, *C. syriaca* ve *S. arvensis* %75.00, *Triticum* sp. %72.66, *N. apiculata* %70.00, *H. murinum* %60.00 oranında yaygın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.)

Bismil ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *G. tricornutum* (5.871 g/kg ve %0.587), *S. arvensis* (5.798 g/kg ve %0.580), *R. arvensis* (3.867 g/kg ve %0.387) bulunmaktadır (Çizelge 3).

Bismil ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhis edilen yabancı ot tohumlarının karışma sayısı en fazla olan türler sırasıyla *S. arvensis* (411.693 adet/kg), *G. tricornutum* (251.281 adet/kg), *R. arvensis* (92.500 adet/kg), *Triticum* sp. (61.700 adet/kg), *N. apiculata* (37.300 adet/kg), *H. murinum* (36.100 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 3).

Silvan ilçesi

Diyarbakır ili Silvan ilçesinde alınan 20 mercimek numunesinde yapılan incelemeler sonucunda yabancı ot tohumlarının 11 familyaya ait 18 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 15 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 7 tür belirlenmiştir.

Bu türler *G. tricornutum* %100.00, *R. arvensis* %90.00, *Triticum* sp. %85.00, *C. syriaca* ve *S. arvensis* %80.00, *N. apiculata* %75.00, *H. murinum* %65.00 oranında yaygın bulunmuştur (Çizelge 4). Silvan ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *G. tricornutum* (7.412 g/kg ve %0.741), *R. arvensis* (6.773 g/kg ve %0.677), *S. arvensis* (5.605 g/kg ve %0.561) türleri bulunmaktadır (Çizelge 4).

Silvan ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *G. tricornutum* (398.636 adet/kg), *S. arvensis* (381.892 adet/kg), *R. arvensis* (321.948 adet/kg), *C. syriaca* (100.980 adet/kg), *N. apiculata* (75.600 adet/kg), *H. murinum* (64.794 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Silvan ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 30.00 | 0.188 | 1.883 | 32.492 | Y |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 65.00 | 0.334 | 3.341 | 64.794 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 85.00 | 0.340 | 3.404 | 23.800 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 30.00 | 0.117 | 1.166 | 10.050 | Y |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 5.00 | 0.025 | 0.254 | 0.600 | N |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |

Çizelge 4. Silvan ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

| | | | | | |
|--|--------|--------------|---------------|-----------------|----|
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 75.00 | 0.307 | 3.074 | 75.600 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 80.00 | 0.561 | 5.605 | 381.892 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 10.00 | 0.025 | 0.252 | 0.700 | Ö |
| Fam: Caryophyllaceae <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 20.00 | 0.070 | 0.701 | 4.750 | Ö |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 10.00 | 0.072 | 0.720 | 52.170 | Ö |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 5.00 | 0.027 | 0.272 | 10.450 | N |
| Fam: Dipsacaceae <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 80.00 | 0.422 | 4.216 | 100.980 | ÇY |
| Fam: Fabaceae <i>Lathyrus</i> sp. (Mürdümük) | 5.00 | 0.030 | 0.295 | 17.150 | N |
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 10.00 | 0.052 | 0.516 | 19.769 | Ö |
| <i>Vicia</i> spp. (Fiğ türleri) | 5.00 | 0.025 | 0.250 | 0.400 | N |
| Fam: Lamiaceae <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberyala lallemanti) | 25.00 | 0.107 | 1.068 | 6.550 | Y |
| Fam: Ranunculaceae <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 90.00 | 0.677 | 6.773 | 321.948 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.741 | 7.412 | 398.636 | ÇY |
| Diğerleri | 10.00 | 0.038 | 0.384 | 2.850 | Ö |
| GENEL TOPLAM | | 4.158 | 41.584 | 1525.582 | |

Sur ilçesi

Diyarbakır ili Sur ilçesinde numune alınan 20 mercimek ürünüde yapılan tohum teşhisleri sonucunda 10 familyaya ait 17 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 2 tanesi monokotiledon, 15 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 4 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum* %100.00, *R. arvensis* %90.00, *Triticum* sp. %65.00, *C. syriaca* %50.00 oranında yaygın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5).

Sur ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *R. arvensis* (12.438 g/kg ve %1.244), *G. tricornutum* (4.581 g/kg ve %0.458), *H. murinum* (4.074 g/kg ve %0.407) türleri bulunmaktadır (Çizelge 5).

Sur ilçesinde mercimek ürünüden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *R. arvensis* (695.379 adet/kg), *S. arvensis* (287.721 adet/kg), *G. tricornutum* (158.690 adet/kg), *H. murinum* (106.266 adet/kg) şeklindedir.

Çizelge 5. Sur ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 45.00 | 0.407 | 4.074 | 106.266 | Y |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 65.00 | 0.326 | 3.261 | 47.108 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 30.00 | 0.137 | 1.369 | 12.300 | Y |
| <i>Turgenia latifolia</i> L. Hoffm. (Pıtrak) | 5.00 | 0.025 | 0.253 | 0.400 | N |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Centaurea</i> sp. (Sarıdiken) | 5.00 | 0.026 | 0.258 | 0.600 | N |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 10.00 | 0.046 | 0.457 | 2.450 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 45.00 | 0.139 | 1.391 | 11.100 | Y |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 45.00 | 0.374 | 3.737 | 287.721 | Y |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 5.00 | 0.025 | 0.250 | 0.200 | N |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 5.00 | 0.028 | 0.280 | 21.427 | N |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 50.00 | 0.147 | 1.473 | 6.350 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Lathyrus</i> sp. (Mürdümük) | 5.00 | 0.027 | 0.267 | 2.400 | N |
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 10.00 | 0.038 | 0.379 | 3.600 | N |
| <i>Pisum</i> spp. (Bezelye türleri) | 5.00 | 0.039 | 0.388 | 4.000 | N |
| <i>Vicia</i> spp. (Fiğ türleri) | 5.00 | 0.022 | 0.217 | 4.150 | N |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 100.00 | 1.244 | 12.438 | 695.379 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 90.00 | 0.458 | 4.581 | 158.690 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 3.520 | 35.201 | 1364.492 | |

Ergani ilçesi

Diyarbakır ili Ergani ilçesinde 20 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 10 familyaya ait 18 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 4 tanesi monokotiledon, 14 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 7 tür belirlenmiştir. Bu türler G.

tricornutum %100.00, *R. arvensis* %90.00, *H. murinum*, *S. arvensis* ve *C. syriaca* %75.00, *Triticum* sp. %70, *N. apiculata* %65.00 oranında bulunmuştur (Çizelge 6).

Çizelge 6. Ergani ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 25.00 | 0.094 | 0.942 | 6.750 | Y |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 75.00 | 0.761 | 7.609 | 220.351 | ÇY |
| <i>Lolium temulentum</i> L. (Delice) | 5.00 | 0.013 | 0.129 | 0.800 | N |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 70.00 | 0.271 | 2.711 | 25.650 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 15.00 | 0.032 | 0.324 | 2.450 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 65.00 | 0.329 | 3.295 | 148.460 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 75.00 | 0.444 | 4.441 | 248.690 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 10.00 | 0.055 | 0.550 | 5.600 | Ö |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 30.00 | 0.086 | 0.862 | 13.250 | Y |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 10.00 | 0.108 | 1.080 | 84.610 | Ö |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 15.00 | 0.068 | 0.679 | 63.570 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 75.00 | 0.521 | 5.212 | 188.930 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Lathyrus</i> sp. (Mürdümük) | 5.00 | 0.053 | 0.534 | 31.581 | N |
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 5.00 | 0.025 | 0.250 | 0.800 | N |
| <i>Vicia</i> sp. (Fiğ türleri) | 10.00 | 0.064 | 0.638 | 22.600 | Ö |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberya lallemantı) | 20.00 | 0.079 | 0.787 | 18.300 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 90.00 | 0.420 | 4.202 | 100.636 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.729 | 7.287 | 403.245 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 4.153 | 41.529 | 1586.273 | |

Ergani ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *H. murinum* (7.609 g/kg ve %0.761), *G. tricornutum* (7.287 g/kg ve %0.729), *C. syriaca* (5.212 g/kg ve %0.521) türleri bulunmaktadır (Çizelge 6).

Ergani ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla *G. tricornutum* (403.245 adet/kg), *S. arvensis* (248.690 adet/kg), *H. murinum* (220.351 adet/kg), *C. syriaca* (188.930 adet), *N. apiculata* (148.460 adet/kg), *R. arvensis* (100.636 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 6).

Kayapınar ilçesi

Diyarbakır ili Kayapınar ilçesinde 10 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 11 familyaya ait 15 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 türü monokotiledon, 12 türü dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 6 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum* %100.00, *R. arvensis* %90.00, *H. murinum* ve *Triticum* sp. %80.00, *C. syriaca* ve *S. arvensis* %60.00 oranında tespit edilmiştir (Çizelge 7).

Kayapınar ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *G. tricornutum* (5.569 g/kg ve %0.557), *S. arvensis* (4.682 g/kg ve %0.468), *R. arvensis* (3.988 g/kg ve %0.399) türleri bulunmaktadır (Çizelge 7).

Çizelge 7. Kayapınar ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (gr/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 30.00 | 0.192 | 1.920 | 51.100 | Y |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 80.00 | 0.358 | 3.579 | 41.800 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 80.00 | 0.346 | 3.461 | 77.000 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 20.00 | 0.063 | 0.634 | 2.900 | Ö |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Centaurea</i> sp. (Sarıdiken) | 10.00 | 0.051 | 0.509 | 1.600 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 40.00 | 0.231 | 2.307 | 114.373 | Y |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 60.00 | 0.468 | 4.682 | 327.776 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 20.00 | 0.026 | 0.256 | 1.000 | Ö |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 10.00 | 0.026 | 0.260 | 8.400 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 60.00 | 0.228 | 2.282 | 8.100 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 10.00 | 0.040 | 0.396 | 21.300 | Ö |

Çizelge 7. Kayapınar ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

| Fam: Lamiaceae | | | | | |
|---|--------|--------------|---------------|-----------------|----|
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberyala lallemantı) | 10.00 | 0.041 | 0.408 | 17.700 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 90.00 | 0.399 | 3.988 | 118.300 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium aparine</i> L. (Dilkanatan) | 10.00 | 0.140 | 1.396 | 5.283 | Ö |
| <i>Galium tricorntutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.557 | 5.569 | 210.666 | ÇY |
| Diğerleri | 10.00 | 0.025 | 0.255 | 0.800 | Ö |
| GENEL TOPLAM | | 3.190 | 31.902 | 1008.098 | |

Kayapınar ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en fazla olan türler sırasıyla *S. arvensis* (327.776 adet/kg), *G. tricorntutum* (210.666 adet/kg), *R. arvensis* (118.300 adet/kg), *Neslia apiculata* Fisch. (114.373 adet/kg), *Triticum* sp. (77.000 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 7).

Çınar ilçesi

Diyarbakır ili Çınar ilçesinde 10 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 9 familyaya ait 14 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 11 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 6 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricorntutum* %100.00, *R. arvensis* %90.00, *N. apiculata* ve *S. arvensis* %80.00, *C. syriaca* %70.00 ve *H. murinum* %50.00 oranında yaygın olduğu bulunmuştur (Çizelge 8).

Çizelge 8. Çınar ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|--|---------------------|----------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabancı yulaf türleri) | 10.00 | 0.044 | 0.443 | 4.700 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 50.00 | 0.343 | 3.432 | 100.900 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 40.00 | 0.15 | 1.54 | 27.00 | Y |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 40.00 | 0.093 | 0.930 | 10.600 | Y |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabancı hindiba) | 20.00 | 0.068 | 0.683 | 6.200 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 80.00 | 0.305 | 3.048 | 100.500 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabancı hardal) | 80.00 | 0.710 | 7.104 | 511.094 | ÇY |

Çizelge 8. Çınar ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
|---|--------|--------------|---------------|-----------------|----|
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 10.00 | 0.054 | 0.540 | 41.238 | Ö |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklastı) | 10.00 | 0.151 | 1.513 | 101.705 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 70.00 | 0.251 | 2.507 | 68.290 | ÇY |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberya lallemantı) | 10.00 | 0.000 | 0.000 | 0.100 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 90.00 | 0.747 | 7.466 | 317.941 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium aparine</i> L. (Dilkanatan) | 10.00 | 0.175 | 1.745 | 10.589 | Ö |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.853 | 8.534 | 412.353 | ÇY |
| Diğerleri | 10.00 | 0.051 | 0.506 | 3.200 | Ö |
| GENEL TOPLAM | | 3.999 | 39.987 | 1716.410 | |

Çınar ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *G. tricornutum* (8.534 g/kg ve %0.853), *R. arvensis* (7.466 g/kg ve %0.747), *S. arvensis* (7.104 g/kg ve %0.710), türleri bulunmaktadır (Çizelge 8).

Çınar ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla *S. arvensis* (511.094 adet/kg), *G. tricornutum* (412.353 adet/kg), *R. arvensis* (317.941 adet/kg), *V. pyramidata* (101.705 adet/kg), *H. murinum* (100.900 adet/kg), *N. apiculata* (100.500 adet/kg) şeklindedir.

Bağlar ilçesi

Diyarbakır ili Bağlar ilçesinde 10 mercimek ürününden alınan numunelerinin incelenmesi sonucunda 10 familyaya ait 14 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 11 tanesi dikotiledon yabancı otlardır.

Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Yaygın olan 7 tür belirlenmiştir. Bu türler *R. arvensis* ve *G. tricornutum* %47.62, *S. arvensis* %38.10, *H. murinum*, *N. apiculata* ve *C. syriaca* %33.33, *Triticum* sp. %28.57 oranında yaygın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 9).

Çizelge 9. Bağlar ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|---------------------|----------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 23.81 | 0.639 | 6.395 | 0.000 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 33.33 | 0.321 | 3.209 | 0.000 | Y |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 28.57 | 0.255 | 2.546 | 0.000 | Y |

Çizelge 9. Bağlar ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

DICOTYLEDONEAE

Fam: Apiaceae (Umbelliferae)

Lisaea strigosa (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı)

23.81 0.239 2.391 0.000 Ö

Fam: Asteraceae (Compositae)

Cichorium intybus L.

(Yabani hindiba)

4.76 0.051 0.514 0.000 N

Fam: Brassicaceae (Cruciferae)

Neslia apiculata Fisch.

(Trakya hardalı)

33.33 0.299 2.986 0.000 Y

Sinapis arvensis L.

(Yabani hardal)

38.10 0.779 7.785 0.000 Y

Fam: Caryophyllaceae

Vaccaria pyramidata Medik (Arap baklası)

14.29 0.117 1.173 0.000 Ö

Fam: Dipsacaceae

Cephalaria syriaca L. (Pelemir)

33.33 0.301 3.013 0.000 Y

Fam: Fabaceae

Melilotus sp. (Taşyoncası)

4.76 0.038 0.385 0.000 N

Fam: Lamiaceae

Lallemantia iberica (Bieb.) Fish. Et Mey.

(İberya lallemantı)

14.29 0.130 1.302 0.000 Ö

Fam: Ranunculaceae

Ranunculus arvensis L.

(Tarla düğün çiçeği)

47.62 1.307 13.071 0.000 Y

Fam: Rubiaceae

Galium aparine L. (Dilkanatan)

5.00 0.215 2.153 9.214 N

Galium tricornutum Dandy (Boynuzlu yoğurt otu)

47.62 1.140 11.400 0.000 Y

GENEL TOPLAM

5.832 58.323 9.214

Bağlar ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *R. arvensis* (13.071 g/kg ve %1.307), *G. tricornutum* (11.400 g/kg ve %1.140), *S. arvensis* (7.785 g/kg ve %0.779) türleri bulunmaktadır (Çizelge 9). Bağlar ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhis edilen yabancı otlardan karışma sayısı en fazla olan tür *G. aparine* (9.214 adet)'dir (Çizelge 9).

Çermik ilçesi

Diyarbakır ili Çermik ilçesinde 10 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 8 familyaya ait 14 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 11 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 7 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum* %100.00, *R. arvensis* ve *Triticum* sp. %90.00, *H. murinum* ve *C. syriaca* %80.00, *N. apiculata* %70.00 ve *S. arvensis* %60.00 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 10).

Çizelge 10. Çermik ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 20.00 | 0.123 | 1.232 | 24.200 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 80.00 | 0.468 | 4.684 | 86.543 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 90.00 | 0.326 | 3.264 | 14.300 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Crambe orientalis</i> L. (Akdeniz doğu lahanası) | 10.00 | 0.041 | 0.414 | 13.600 | Ö |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 70.00 | 0.283 | 2.831 | 105.300 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 60.00 | 0.266 | 2.655 | 178.253 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 10.00 | 0.050 | 0.499 | 0.400 | Ö |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 40.00 | 0.887 | 8.867 | 476.551 | Y |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 10.00 | 0.040 | 0.402 | 15.700 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 80.00 | 0.540 | 5.396 | 243.617 | ÇY |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberyala lallemantı) | 20.00 | 0.092 | 0.925 | 21.900 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 90.00 | 0.382 | 3.817 | 95.619 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium aparine</i> L. (Dilkanatan) | 10.00 | 0.537 | 5.373 | 120.000 | Ö |
| <i>Galium tricorntutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.601 | 6.009 | 256.816 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 4.637 | 46.368 | 1652.799 | |

Çermik ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *A. githago* (8.867 g/kg ve %0.887), *G. tricorntutum* (6.009 g/kg ve %0.601), *C. syriaca* (5.396 g/kg ve %0.540), türleri bulunmaktadır (Çizelge 10).

Çermik ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *A. githago* (476.551 adet/kg), *G. tricorntutum* (256.816 adet/kg), *C. syriaca* (243.617 adet/kg), *S. arvensis* (178.253 adet/kg), *N. apiculata* (105.300 adet/kg), *R. arvensis* (95.619 adet/kg), *H. murinum* (86.543 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 10).

Kocaköy ilçesi

Diyarbakır ili Kocaköy ilçesinde 5 mercimek ürününden alınan numunelerin incelenmesi sonucunda 6 familyaya ait 8 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 5 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 5 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum*, *R. arvensis*, *Triticum* sp. ve *H. murinum* %80.00, *C. syriaca* %60.00 oranında yaygın bulunmuştur (Çizelge 11).

Çizelge 11. Kocaköy ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 40.00 | 0.201 | 2.014 | 37.600 | Y |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 80.00 | 0.396 | 3.956 | 13.400 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 80.00 | 0.334 | 3.340 | 38.000 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 20.00 | 0.075 | 0.750 | 1.000 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 40.00 | 0.428 | 4.281 | 334.495 | Y |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 60.00 | 0.251 | 2.506 | 3.400 | ÇY |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 80.00 | 0.473 | 4.731 | 252.665 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 80.00 | 0.338 | 3.385 | 45.800 | ÇY |
| Diğerleri | 20.00 | 0.100 | 1.002 | 1.600 | Ö |
| GENEL TOPLAM | | 2.596 | 25.964 | 727.960 | |

Kocaköy ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *R. arvensis* (4.731 g/kg ve %0.473), *S. arvensis* (4.281 g/kg ve %0.428), *H. murinum* (3.956 g/kg ve %0.396) türleri bulunmaktadır (Çizelge 11).

Kocaköy ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *S. arvensis* (334.495 adet/kg), *R. arvensis* (252.665 adet/kg), *G. tricornutum* (45.800 adet/kg), *Triticum* sp. (38.000 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 11).

Dicle ilçesi

Diyarbakır ili Dicle ilçesinde 5 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 11 familyaya ait 17 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 14 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Dicle ilçesinde tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 10 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum*, *R. arvensis* ve *N. apiculata* %100.00, *C. syriaca*, *S. arvensis*, *T. latifolia* ve

Triticum sp. (%80.00), *L. iberica*, *S. media* ve *L. strigosa* %60.00 oranında yaygın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 12).

Çizelge 12. Dicle ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 20.00 | 0.053 | 0.526 | 2.600 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 40.00 | 0.911 | 9.107 | 299.369 | Y |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 80.00 | 0.344 | 3.439 | 28.800 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 60.00 | 0.151 | 1.510 | 5.000 | ÇY |
| <i>Turgenia latifolia</i> L. Hoffm. (Pıtrak) | 80.00 | 0.270 | 2.697 | 26.600 | ÇY |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 20.00 | 0.088 | 0.879 | 14.000 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 100.00 | 0.597 | 5.967 | 309.670 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 80.00 | 1.076 | 10.755 | 828.322 | ÇY |
| Fam: Boraginaceae | | | | | |
| <i>Buglossoides arvensis</i> (L.) Johnst. (Taşkesen otu) | 40.00 | 0.202 | 2.019 | 6.400 | Y |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 20.00 | 0.077 | 0.773 | 6.200 | Ö |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 60.00 | 0.620 | 6.199 | 668.503 | ÇY |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 80.00 | 0.508 | 5.077 | 199.671 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Melilotus</i> sp. (Taşyoncası) | 40.00 | 0.156 | 1.562 | 61.800 | Y |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberya lallemantı) | 60.00 | 0.311 | 3.110 | 178.288 | ÇY |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 100.00 | 1.372 | 13.717 | 752.318 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium aparine</i> L. (Dilkanatan) | 20.00 | 0.358 | 3.582 | 23.543 | Ö |
| <i>Galium tricorntum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 1.208 | 12.083 | 794.269 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 8.300 | 83.003 | 4205.353 | |

Dicle ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *R. arvensis* (13.717 g/kg ve %1.372), *G. tricornutum* (12.083 g/kg ve %1.208), *S. arvensis* (10.755 g/kg ve %1.076) türleri bulunmaktadır (Çizelge 12).

Dicle ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *S. arvensis* (828.322 adet/kg), *G. tricornutum* (794.269 adet/kg), *R. arvensis* (752.318 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 12).

Eğil ilçesi

Diyarbakır ili Eğil ilçesinde 5 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 10 familyaya ait 15 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 12 tanesi dikotiledon yabancı otlardır (Çizelge 13).

Çizelge 13. Eğil ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 10.00 | 0.138 | 1.378 | 51.765 | Ö |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 60.00 | 0.521 | 5.211 | 150.098 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 90.00 | 0.373 | 3.726 | 25.200 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 20.00 | 0.075 | 0.752 | 1.600 | Ö |
| <i>Turgenia latifolia</i> L. Hoffm. (Pıtrak) | 10.00 | 0.050 | 0.501 | 0.400 | Ö |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 10.00 | 0.039 | 0.394 | 3.100 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 50.00 | 0.219 | 2.188 | 94.700 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 40.00 | 0.384 | 3.835 | 311.252 | Y |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 20.00 | 0.100 | 1.005 | 3.600 | Ö |
| <i>Stellaria media</i> L. Vill. (Serçe dili) | 10.00 | 0.140 | 1.400 | 83.540 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 80.00 | 0.557 | 5.574 | 195.548 | ÇY |
| Fam: Fabaceae | | | | | |
| <i>Vicia</i> spp. (Fiğ türleri) | 10.00 | 0.051 | 0.514 | 3.200 | Ö |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberyala lallemanti) | 10.00 | 0.050 | 0.501 | 1.600 | Ö |

Çizelge 13. Eğil ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

| | | | | | |
|--|--------|--------------|---------------|-----------------|----|
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 80.00 | 0.326 | 3.258 | 60.100 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.620 | 6.196 | 289.875 | ÇY |
| Diğerleri | 10.00 | 0.025 | 0.249 | 0.200 | Ö |
| GENEL TOPLAM | | 3.668 | 36.681 | 1275.779 | |

Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 6 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum* %100.00, *Triticum* sp. %90.00, *R. arvensis* ve *C. syriaca* %80.00, *H. murinum* (%60.00), *N. apiculata* %50.00 oranında tespit edilmiştir (Çizelge 13). Eğil ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *S. media* (139.565 g/kg ve %13.957), *G. tricornutum* (6.196 g/kg ve %0.620), *C. syriaca* (5.574 g/kg ve %0.557) türleri bulunmaktadır (Çizelge 13). Eğil ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *S. arvensis* (311.252 adet/kg), *G. tricornutum* (289.875 adet/kg), *C. syriaca* (195.548 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 13).

Hani ilçesi

Diyarbakır ili Hani ilçesinde 5 mercimek ürününden alınan numunelerin incelenmesi sonucunda 9 familyaya ait 12 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 2 tanesi monokotiledon, 10 tanesi dikotiledon yabancı otlardır Çizelge (14).

Çizelge 14. Hani ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|--|---------------------|----------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 40.00 | 0.141 | 1.406 | 11.000 | Y |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 80.00 | 0.307 | 3.070 | 8.400 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 20.00 | 0.076 | 0.757 | 2.600 | Ö |
| <i>Turgenia latifolia</i> L. Hoffm. (Pıtrak) | 20.00 | 0.100 | 1.002 | 0.800 | Ö |
| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 20.00 | 0.079 | 0.788 | 6.200 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 80.00 | 0.361 | 3.609 | 180.000 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 60.00 | 0.658 | 6.579 | 502.505 | ÇY |

Çizelge 14. Hani ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

| | | | | | |
|---|--------|--------------|---------------|-----------------|----|
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Agrostemma githago</i> L. (Karamuk) | 20.00 | 0.100 | 1.002 | 1.600 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 100.00 | 0.857 | 8.567 | 372.296 | ÇY |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberya lallemanti) | 20.00 | 0.100 | 1.002 | 3.200 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 80.00 | 0.322 | 3.218 | 105.000 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.826 | 8.263 | 447.950 | ÇY |
| Diğerleri | 20.00 | 0.050 | 0.498 | 0.400 | Ö |
| GENEL TOPLAM | | 3.976 | 39.761 | 1641.951 | |

Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 6 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum* ve *C. syriaca* %100.00, *Triticum* sp., *N. apiculata* ve *R. arvensis* %80.00, *S. arvensis* %60.00 oranında yaygın bulunmuştur (Çizelge 14). Hani ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *C. syriaca* (8.567 g/kg ve %0.857), *G. tricornutum* (8.263 g/kg ve %0.826), *S. arvensis* (6.579 g/kg ve %0.658) türleri bulunmaktadır (Çizelge 14). Hani ilçesinde mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *S. arvensis* (502.505 adet/kg), *G. tricornutum* (447.950 adet/kg), *C. syriaca* (372.296 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 14).

Yenişehir ilçesi

Diyarbakır ili Yenişehir ilçesinde 5 mercimek ürününden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 9 familyaya ait 11 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 2 tanesi monokotiledon, 9 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 8 tür belirlenmiştir.

Çizelge 15. Yenişehir ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (gr/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|--|------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 80.00 | 0.457 | 4.574 | 86.000 | ÇY |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 60.00 | 0.296 | 2.955 | 56.800 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 60.00 | 0.250 | 2.503 | 3.200 | ÇY |

Çizelge 15. Yenişehir ilçesinde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı (devamı)

| Fam: Asteraceae (Compositae) | | | | | |
|---|--------|--------------|---------------|-----------------|----|
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | 20.00 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 100.00 | 0.408 | 4.085 | 45.800 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 60.00 | 0.572 | 5.723 | 418.381 | ÇY |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 20.00 | 0.086 | 0.863 | 68.000 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 100.00 | 0.42 | 4.18 | 38.20 | ÇY |
| Fam: Lamiaceae | | | | | |
| <i>Lallemantia iberica</i> (Bieb.) Fish. Et Mey. (İberya lallemantı) | 20.00 | 0.077 | 0.771 | 11.400 | Ö |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 100.00 | 0.505 | 5.055 | 203.844 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.856 | 8.557 | 480.279 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 3.927 | 39.269 | 1411.904 | |

Bu türler *G. tricornutum* *N. apiculata*, *R. arvensis* ve *C. syriaca* %100.00, *H. murinum* %80.00, *Triticum* sp., *L. strigosa* ve *S. arvensis* %60.00 oranında yaygın tespit edilmiştir (Çizelge 15). Yenişehir ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *G. tricornutum* (8.557 g/kg ve %0.856), *S. arvensis* (5.723 g/kg ve %0.572) ve *R. arvensis* (5.055 g/kg ve %0.505) türleri bulunmaktadır (Çizelge 15).

Mercimek ürününden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *G. tricornutum* (480.279 adet/kg), *S. arvensis* (418.381 adet/kg), *R. arvensis* (203.844 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 15).

Hazro ilçesi

Diyarbakır ili Hazro ilçesinde 5 mercimek ürününden alınan numunelerin incelenmesi sonucunda 7 familyaya ait 13 tür yabancı otun tespiti yapılmıştır. Saptanan bu yabancı ot türlerinin 3 tanesi monokotiledon, 10 tanesi dikotiledon yabancı otlardır. Tespit edilen yabancı otların yaygınlık ve rastlama sıklığı açısından değerlendirdiğimizde Çok yaygın olan 6 tür belirlenmiştir. Bu türler *G. tricornutum* *S. arvensis*, *R. arvensis* ve *C. syriaca* %100.00, *N. apiculata* %80.00, *Triticum* sp. %60.00 oranında yaygın tespit edilmiştir (Çizelge 16).

Hazro ilçesinde görülen türler ürüne karışma miktarı ve karışma oranı olarak incelendiğinde ilk 3 sırada *G. tricornutum* (9.488 g/kg ve %0.949), *S. arvensis* (6.015 g/kg ve %0.601) ve *R. arvensis* (4.306 g/kg ve %0.431) türleri bulunmaktadır (Çizelge 16).

Mercimek ürünlerinden alınan 1 kg'lık numunelerde teşhisi yapılan yabancı otlardan karışma sayısı en çok olan türler sırasıyla; *G. tricornutum* (600.146 adet/kg), *S. arvensis* (360.193 adet/kg), *R. arvensis* L. (142.200 adet/kg) şeklindedir (Çizelge 16).

Çizelge 16. Hazro ilçesi'nde mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının yaygınlık, karışma oranı, karışma miktarı, karışma sayısı ve rastlama sıklığı

| Yabancı Ot Türleri | Yaygınlık (RS %) | Karışma Oranı (%) | Karışma Miktarı (g/kg) | Karışma Sayısı (adet/kg) | Rastlama Sıklığı |
|---|------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------|
| MONOCOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Poaceae | | | | | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | 40.00 | 0.250 | 2.502 | 47.600 | Y |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | 20.00 | 0.101 | 1.008 | 0.800 | Ö |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | 60.00 | 0.281 | 2.814 | 9.400 | ÇY |
| DICOTYLEDONEAE | | | | | |
| Fam: Apiaceae (Umbelliferae) | | | | | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | 20.00 | 0.100 | 0.998 | 0.800 | Ö |
| <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (Zühre tarağı) | 20.00 | 0.102 | 1.020 | 8.800 | Ö |
| Fam: Brassicaceae (Cruciferae) | | | | | |
| <i>Chorispora</i> sp. (Suriye turpu) | 20.00 | 0.051 | 0.508 | 2.600 | Ö |
| <i>Myagrum perfoliatum</i> L. (Gönül hardalı) | 20.00 | 0.051 | 0.508 | 1.400 | Ö |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | 80.00 | 0.282 | 2.815 | 35.400 | ÇY |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | 100.00 | 0.601 | 6.015 | 360.193 | ÇY |
| Fam: Caryophyllaceae | | | | | |
| <i>Vaccaria pyramidata</i> Medik (Arap baklası) | 20.00 | 0.111 | 1.106 | 62.400 | Ö |
| Fam: Dipsacaceae | | | | | |
| <i>Cephalaria syriaca</i> L. (Pelemir) | 100.00 | 0.382 | 3.816 | 12.000 | ÇY |
| Fam: Ranunculaceae | | | | | |
| <i>Ranunculus arvensis</i> L. (Tarla düğün çiçeği) | 100.00 | 0.431 | 4.306 | 142.200 | ÇY |
| Fam: Rubiaceae | | | | | |
| <i>Galium tricornutum</i> Dandy (Boynuzlu yoğurt otu) | 100.00 | 0.949 | 9.488 | 600.146 | ÇY |
| GENEL TOPLAM | | 3.690 | 36.904 | 1283.739 | |

Mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının ilçelerdeki durumları incelendiğinde *Avena* türlerine 14 ilçenin 11'inde rastlandığı ama hiçbirinde yaygınlığının %50.00'nin üzerinde olmadığı görülmüştür. *H. murinum* türüne 14 ilçenin tamamında rastlanırken, Bismil, Silvan, Ergani, Kayapınar, Çınar, Çermik, Kocaköy, Eğil, Yenişehir ilçelerinde yaygınlıklarının %50.00'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. *L. temulentum* türüne sadece Ergani ilçesinde rastlanmış ve yaygınlığı %50.00'nin altında belirlenmiştir. *Triticum* türüne 14 ilçenin tamamında rastlanırken, sadece Çınar ve Bağlar ilçelerinde yaygınlıkları %50.00'nin altında, diğer ilçelerde ise üstünde tespit edilmiştir. *L. strigosa* türüne Çermik ilçesi hariç diğer 13 ilçede rastlanmış ve yaygınlıkları sadece Dicle ve Yenişehir ilçelerinde %50.00'nin üzerinde bulunmuştur. *S. pecten-veneris* türüne sadece Hazro, *Tordylium* türlerine ise sadece Bismil ilçelerinde rastlanmış ve yaygınlıkları %50.00'nin altında tespit edilmiştir. *T. latifolia* türüne 4 ilçede rastlanmış ve sadece Dicle ilçesinde yaygınlığı %50.00'nin üzerinde bulunmuştur. *C. depressa* ve *Centaurea* türüne 2, *C. intybus* türüne 9 ilçede rastlanmış ve yaygınlıkları %50.00'nin altında tespit edilmiştir. *Chorispora* ve *M. perfoliatum* türlerine sadece Hazro ilçesinde *C.*

orientalis türüne ise sadece Çermik ilçesinde rastlanmıştır ve yaygınlıkları %50.00'nin altında bulunmuştur. *N. apiculata* türüne Kocaköy ilçesi hariç diğer 13 ilçede rastlanırken, sadece Sur, Kayapınar ve Bağlar ilçelerinde yaygınlıkları %50.00'nin altında, rastlandığı diğer ilçelerde ise üstünde bulunmuştur. *S. arvensis* türüne 14 ilçenin tamamında rastlanmıştır ve Sur, Bağlar, Kocaköy ve Eğil ilçeleri hariç rastlandığı diğer ilçelerde yaygınlıkları %50.00'nin üzerinde tespit edilmiştir. *B. arvensis* türüne 7, *A. githago* türüne 6, *V. pyramidata* türüne 8 ilçede rastlanmıştır ama bu türlerin yaygınlıkları %50.00'nin altında saptanmıştır. *S. media* türüne 7 ilçede rastlanmıştır ve sadece Dicle ilçesinde yaygınlığı %50.00'nin üzerinde tespit edilmiştir. *C. syriaca* türüne 14 ilçenin tamamında rastlanmıştır ve Bağlar hariç diğer ilçelerin hepsinde yaygınlıkları %50.00'nin üzerinde bulunmuştur. *Lathyrus* türüne 4, *Melilotus* türüne 7, *Vicia* türlerine 4 ilçede rastlanırken, *Pisum* türlerine sadece Sur ilçesinde rastlanmıştır ve hepsinin de yaygınlıkları %50.00'nin altında saptanmıştır. *L. iberica* türüne 11 ilçede rastlanmıştır ama sadece Dicle ilçesinde yaygınlığı %50.00'nin üzerinde tespit edilmiştir. *G. aparine* türüne 5 ilçede rastlanmıştır ve yaygınlıkları %50.00'nin altında saptanmıştır. *R. arvensis* ve *G. tricornutum* türlerine 14 ilçenin tamamında rastlanırken, Bağlar ilçesi hariç diğer ilçelerin hepsinde yaygınlıkları %50.00'nin üzerinde bulunmuştur.

Çizelge 17. Mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının ilçelerdeki rastlanma durumları

| Yabancı Ot Türleri | Rastlanılan İlçeler |
|---|---|
| MONOCOTYLEDONEAE | |
| Fam: Poaceae | |
| <i>Avena</i> spp. (Yabani yulaf türleri) | Bismil, Silvan, Ergani, Kayapınar, Çınar, Bağlar, Çermik, Kocaköy, Dicle, Eğil, Hazro |
| <i>Hordeum murinum</i> L. (Duvar arpası) | Bismil*, Silvan*, Sur, Ergani*, Kayapınar*, Çınar*, Bağlar, Çermik*, Kocaköy*, Dicle, Eğil*, Hani, Yenişehir*, Hazro |
| <i>Lolium temulentum</i> L. (Delice) | Ergani |
| <i>Triticum</i> sp. (Kendi gelen buğday) | Bismil*, Silvan*, Sur*, Ergani*, Kayapınar*, Çınar, Bağlar, Çermik*, Kocaköy*, Dicle*, Eğil*, Hani*, Yenişehir*, Hazro* |
| DICOTYLEDONEAE | |
| Fam: Apiaceae | |
| <i>Lisaea strigosa</i> (Banks et Sol.) Eig. (Dik gelin pıtrağı) | Bismil, Silvan, Sur, Ergani, Kayapınar, Çınar, Bağlar, Kocaköy, Dicle*, Eğil, Hani, Yenişehir*, Hazro |
| <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (Zühre tarağı) | Hazro |
| <i>Tordylium</i> spp. (Geyik otları) | Bismil |
| <i>Turgenia latifolia</i> L. Hoffm. (Pıtrak) | Sur, Dicle*, Eğil, Hani |
| Fam: Asteraceae | |
| <i>Centaurea depressa</i> Bieb. (Yatık Gökbaş) | Bismil, Sur |
| <i>Centaurea</i> sp. (Saridiken) | Bismil, Kayapınar |
| <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba) | Bismil, Silvan, Sur, Çınar, Bağlar, Dicle, Eğil, Hani, Yenişehir |
| Fam: Brassicaceae | |
| <i>Chorispora</i> sp. (Suriye turpu) | Hazro |
| <i>Crambe orientalis</i> L. (Akdeniz doğu lahanası) | Çermik |
| <i>Myagrum perfoliatum</i> L. (Gönül hardalı) | Hazro |
| <i>Neslia apiculata</i> Fisch. (Trakya hardalı) | Bismil*, Silvan*, Sur, Ergani*, Kayapınar, Çınar*, Bağlar, Çermik*, Dicle*, Eğil*, Hani*, Yenişehir*, Hazro* |
| <i>Sinapis arvensis</i> L. (Yabani hardal) | Bismil*, Silvan*, Sur, Ergani*, Kayapınar*, Çınar*, Bağlar, Çermik*, Kocaköy, Dicle*, Eğil, Hani*, Yenişehir*, Hazro* |

Çizelge 17. Mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının ilçelerdeki rastlanma durumları (devamı)**Fam: Boraginaceae**

Buglossoides arvensis (L.) Johnst.
(Taşkesen otu)

Bismil, Silvan, Sur, Ergani, Kayapınar, Çermik, Dicle

Fam: Caryophyllaceae

Agrostemma githago L. (Karamuk)
Stellaria media L. Vill. (Serçe dili)
Vaccaria pyramidata Medik.
(Arap baklası)

Silvan, Ergani, Çermik, Dicle, Eğil, Hani
Silvan, Sur, Ergani, Kayapınar, Çınar, Dicle*, Eğil
Bismil, Silvan. Ergani, Çınar, Bağlar, Çermik, Yenişehir, Hazro

Fam: Dipsacaceae

Cephalaria syriaca L. (Pelemir)

Bismil*, Silvan*, Sur*, Ergani*, Kayapınar*, Çınar*, Bağlar, Çermik*,
Kocaköy*, Dicle*, Eğil*, Hani*, Yenişehir*, Hazro*

Fam: Fabaceae

Lathyrus sp. (Mürdümük)
Melilotus sp. (Taşyoncası)
Pisum spp. (Bezelye türleri)
Vicia spp. (Fiğ türleri)

Bismil, Silvan, Sur, Ergani
Bismil, Silvan, Sur, Ergani, Kayapınar, Bağlar, Dicle
Sur,
Silvan, Sur, Ergani, Eğil

Fam: Lamiaceae

Lallemantia iberica (Bieb.) Fish. Et Mey.
(İberyala lallemanti)

Bismil, Silvan, Ergani, Kayapınar, Çınar, Bağlar, Çermik, Dicle*, Eğil,
Hani, Yenişehir

Fam: Ranunculaceae

Ranunculus arvensis L.
(Tarla düğün çiçeği)

Bismil*, Silvan*, Sur*, Ergani*, Kayapınar*, Çınar*, Bağlar, Çermik*,
Kocaköy*, Dicle*, Eğil*, Hani*, Yenişehir*, Hazro*

Fam: Rubiaceae

Galium aparine L. (Dilkanatan)
Galium tricornutum Dandy (Boynuzlu yoğurt
otu)

Kayapınar, Çınar, Bağlar, Çermik, Dicle
Bismil*, Silvan*, Sur*, Ergani*, Kayapınar*, Çınar*, Bağlar, Çermik*,
Kocaköy*, Dicle*, Eğil*, Hani*, Yenişehir*, Hazro*
Silvan, Kayapınar, Çınar, Kocaköy, Eğil, Hani

Diğerleri

* Yayınlılığı \geq %50'den büyük olan yabancı türleri

Çalışma alanından (14 ilçe 150 farklı tarım işletmesi) alınan mercimek örneklerinde, 11 (1 monokotiledon, 10 dikotiledon) familyaya içerisinde toplam 29 yabancı ot türü saptanmıştır. Mercimeğe karışan yabancı otların tür miktarı yönünden en çok tür içeren bitki familyaları yapılan teşhisler sonucunda Brassicaceae familyasından 5, Apiaceae, Poaceae ve Fabaceae familyasından 4'er, Asteraceae ve Caryophyllaceae familyasından 3'er, Rubiaceae familyasından 2, Boraginaceae, Dipsacaceae, Lamiaceae ve Ranunculaceae familyalarından ise 1'er tür tespit edilmiştir (Şekil 2). Saptanan familyalar mercimek ekim alanları ile birlikte Türkiye'de ekim alanlarına uyum gösteren en zararlı yabancı otları içermektedir (Uluğ ve ark., 1993; Özer ve ark., 2001; Günçan ve Karaca, 2018; Önen, 2020). Mercimeğe karışan yabancı ot tohumlarının saptanması için Siirt ve Bayburt'ta ayrı ayrı yapılan araştırmalarda da tür sayısı yönünden en fazla belirtilen bitki familyalarının görüldüğü bildirilmiştir (Kordali ve Zengin, 2009b; Sırrı, 2023). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yabancı ot florasını belirlemek için mercimek üretim alanlarında yürütülen sörvey araştırmaları da belirtilen bitki familyalarının en fazla yabancı ot miktarını kapsayanlar içinde olduğunu ortaya koymuştur (Özer ve ark., 1996; Bukun ve Guler, 2005; Arslan ve ark., 2017; Pala ve ark., 2018a; Ballı, 2018; Sırrı, 2020).

Diyarbakır il genelinde mercimeğe karışmış olan yabancı ot tohumlarının yaygınlığı açısından değerlendirildiğinde; Çok yaygın seviyesinde yedi yabancı ot belirlenmiştir. Bu türler sırasıyla: *G. tricornutum* %98.00, *R. arvensis* %92.66, *Triticum* sp. ve *C. syriaca* %72.66, *S. arvensis* %67.33, *N. apiculata* %64.00 ve *H. murinum* %62.66'dur. Mercimek ürününe karışan yabancı ot türlerinin yoğunluğu açısından yapılan değerlendirmede 1 kg'lık ürün içerisinde (774.78 adet/kg) ile *S. media*

türü ilk sırada tespit edilmiştir. Bu yabancı ot türünü sırayla; *S. arvensis* (365.67 adet/kg), *G. tricornutum* (364.42 adet/kg), *G. aparine* (331.12 adet/kg), *R. arvensis* (320.67 adet/kg) ile takip etmektedir. Ürüne karışma miktarı ve karışma oranı bakımından ilk sırayı *S. media* (9.84 g/kg ve % 0.98) almakta ve bunu sırasıyla *G. tricornutum* (7.09 g/kg ve %0.70), *R. arvensis* (6.67 g/kg ve %0.66) ve *G. aparine* (5.56 g/kg ve %0.55) türleri izlemiştir. Mercimekte 1000 g mercimek ürününe ortalama 2615.793 adet yabancı ot tohumunun olduğu ve ortalama ağırlığının 53.110 (%5.448) g/kg olduğu bulunmuştur.

Kordali ve Zengin (2009b) yaptıkları araştırmada mercimekte 14 familyada, 36 türün sıralı bir şekilde; *Vicia* spp., *Triticum* sp., *S. arvensis*, *L. multiflorum*, *A. fatua*, *H. vulgare*, *C. intybus*, *G. tricornutum*, *C. deprassa*, *F. convolvulus*, *B. orientalis*, *C. arvensis*, *T. latifolia*, *A. githago*, *G. elegans*, *V. pyramidata* ve *M. lupulina*'nın adet bakımından en çok karışan tohumlar olduğunu belirtmiştir. 1 kg'lık mercimek ürününe ortalama olarak 15.215 g ve 30.530 adet/g yabancı ot tohumunun karıştığını belirtmişlerdir. Bu iki ildeki 1 kg mercimek ürününe karışan yabancı ot ağırlığının farklı olması iller arasındaki ekolojik faktörlerden ve yapılan mücadele yöntemlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diyarbakır ilinde yürütülen çalışmada elde edilen bulgular, bu çalışmadaki *F. convolvulus* dışında kalan türlerin tamamını farklı yoğunluk seviyesinde kapsamaktadır. Bölgede yapılmış survey çalışmaları incelendiğinde mercimek ve buğday alanlarında *F. convolvulus* türüne rastlanmadığı görülmektedir (Uludağ ve Demir 1997; Özasan, 2011; Ateş, 2017; Ballı, 2018; Pala ve ark., 2018a; Ateş ve Üremiş, 2020). Bayburt ilinde *F. convolvulus* türünün farklı bulunması, Bayburt ve Diyarbakır illerinin sahip olduğu bölge ve iklim özelliklerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bayburt İlinde mercimek, buğday ve arpa ürününe karışan yabancı otların benzerlikleri yönünden değerlendirilmiş ve ürününe karışan yabancı otların benzerliği mercimek-buğday da %65.43, mercimek - arpa %62.62 ve buğday-arpa da ise %72.13 olarak tespit edilmiştir (Kordali ve Zengin, 2009b)

Siirt İlinde 2020 ve 2021 senelerinde hasat sonrasında selektör yapılmadan önce birbirinden farklı 70 mercimek ürününden alınmış örneklerde yürütülen araştırma sonucunda mercimeğe 13 familyada 43 yabancı otun tohumlarının karıştığı belirtilmiştir. Mercimeğe karışmış olan yabancı ot tohumlarının ortalama adetinin 538.6 adet/kg ve ortalama toplam miktarının 9.58 g/kg olarak bulunmuştur. Mercimekte tohumlarına çok fazla rastlanan yabancı otlar sıralı bir şekilde; *Galium* spp. (%96.96), *V. sativa* (%95.45), *Vicia* spp., (%95.11), *Avena* spp., (%93.60), *N. paniculata* subsp. *thracica* (%92.08), *R. arvensis* (%90.23), *V. narbonensis* (%71.71), *C. syriaca* (%81.98), *V. hispanica* (%76.43), *Triticum* sp. (%68.35), *S. arvensis* (%66.66), *S. pecten-veneris* (%60.77) ve *H. vulgare* (%51.34) olarak belirtilmiştir (Sırrı, 2023). Literatürdeki bu sonuçlar, mevcut çalışma ile benzerlik göstermekte ve türlerin çoğunu farklı yoğunluk seviyesinde de olsa kapsamaktadır. İki il arasında 1 kg mercimeğe karışan yabancı ot ağırlıkları yönünden Siirt ilindeki tohumlardan bu çalışmada bulunan tohumların ağırlığı ve sayısı daha fazla çıkmıştır. Diyarbakır İlinde Buğday ürününe karışan yabancı ot tohumlarının ağırlığının 485.3 g/50 kg, karışım oranının %1 ve sayısının da 633/50 kg adet olduğu saptanmıştır (Pala ve ark., 2018b). Bu sonuçlar ile mercimekte bulunan yabancı ot tohum ağırlığı, karışım miktarı ve sayısı karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bunun yanında tarım ekosisteminde ürünlere karışan yabancı ot tohumlarının karışma miktarları kullanılan çeşit, toprak özellikleri, bölgesel iklim koşulları, ekim nöbeti, yapılan yabancı ot mücadele uygulamaları, üretim şekli, yönetim stratejileri gibi çok farklı faktörlerden kaynaklı farklılık olabilmektedir (Özer ve ark., 2001; Önen, 2010, 2015; Kaçan ve Tursun, 2015; Gökalp ve Üremiş, 2015; Arslan ve ark., 2017). Bu nedenle araştırma bulguları arasındaki farklılıkların yukarıda belirtilen bu nedenlerin bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

Son yıllarda dünyada İmidazolinone (IMI) grubu herbisitlere dayanıklı mercimekler geliştirilmiş ve çiftçinin kullanımına sunulmuştur. Bu konu ile ilgili Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü (TARM) tarafından geliştirilmiş olan mercimek hatlarının IMI grubu herbisitlere karşı dayanım çeşitliliğini belirlemek amacıyla 2014 yılında sera, 2014/15'de ise tarla şartlarında iki yıl süre ile çalışma yapılmıştır. Çalışmada kurumdaki Baklagil İslah Birimi'ndeki 759 adet hat materyal olarak kullanılmıştır. 2014 senesinde serada yetiştirilmiş olan genotiplere erken gelişme döneminde etken maddesi 40 g/L olan imazomax SL kimyasalı kullanılmıştır. Gözlemler ve değerlendirmeler sonucu 36 adet kışlık materyal seçilmiş ve 2014/2015 yetiştirme sezonunda kontrol, normal ve 3 katı doz olacak şekilde Haymana'da tarlaya ekilmiştir. Çalışma sonucunda 35 numaralı kışlık kırmızı mercimek genotipinin IMI grubu herbisite tolerant olduğu belirlenmiştir (Aydoğan ve ark., 2016). Herbisitlere toleranslı mercimek çeşitlerinin kullanımının artmasıyla yabancı otlarla mücadelede daha başarılı sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.

Yabancı otların verim ve kaliteyi olumsuz etkilemesi ve özellikle tahıl ve baklagillerde hasat esnasında ürüne karışmış zehirli olduğu bilinen yabancı ot tohumları olumsuz yönde insan-hayvan sağlığını da etkilemektedir. Çalışma sonucunda bulunan *C. syriaca* ve *R. arvensis* tohumlarının buğday hasadı sırasında tohuma, daha sonrada beraber una karışmasının, içeriğindeki zehirli bileşikler vasıtasıyla farklı zehirlenmelere sebep olmaktadır (Baytop, 1963; Tursun ve ark., 1997). Buğday vb tarım ekosistemindeki kültür bitkilerinin tohumlarına karışmış zehirli olanların bazıları (*A. githago*, *L. temulentum*, *M. arvense* ve *E. falcata*) ürüne karışarak sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Baytop, 1963; Muzik, 1970; Tursun ve ark., 1997; Güncan, 2002). Bu nedenle elde edilen bulgular doğrultusunda mercimek ürününe karışmış yabancı otların tohumlarının (*A. githago* ve *L. temulentum*) tüketimden önce mutlaka ayıklanması gereklidir.

SONUÇ

Ülke ekonomisinde önemli bir paya sahip olan kırmızı mercimek ekim alanlarında sorun oluşturan yabancı otların yoğunluğuyla ilgili çalışmalar bulunmasına rağmen hasat sonrası ürüne karışan yabancı ot tohumlarının belirlenmesiyle ilgili kırmızı mercimek alanlarında çalışma çok az bulunmaktadır. Tarım ekosistemde hasat edilen ürünlere karışan yabancı ot tohumlarının tür ve yoğunluklarının saptanması için yapılan araştırmalar yalnızca tohumlarla taşınan yabancı otların belirlenmesinin yanında yabancı otlar ile mücadele yöntemlerinin başarısını da ortaya çıkaran önemli sonuçlar vermesiyle de önemlidir.

Bölgede sulu ve kuru buğday tarımıyla birlikte özellikle kuru buğday tarımının yapıldığı alanlarda münavebe bitkisi olarak mercimek tarımı yaygın bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Mercimek bitkisinin geniş yapraklı, buğdayın ise dar yapraklı olması bu alanlarda kullanılan herbisitler ve bu herbisitlerin kontrol ettiği türler arasında önemli farklar ortaya çıkarabilmektedir. Ayrıca bölgede mercimek tarımı yapan üreticiler yabancı otlara karşı kimyasal mücadele, mekanik mücadele uygulamalarından birini tercih edebildiği gibi yağışlı geçen sezonlarda kimyasal mücadele + mekanik mücadele kombinasyonlarını da tarım alanlarına uygulayabilmektedir. Bu durum yabancı otların bazı türlerinin yaygınlık ve yoğunluğunu artırırken bazı türlerin ise baskı altında tutulmasını sağlayabilmektedir. Kıtalar ve ülkeler arasında yapılan ürün/tohumluk ticareti ile çok az zamanda yabancı ot tohumları geniş alanlara dağılabilmekte ve vektörler yoluyla bulaşık olmayan yeni alanlara taşınabilmektedir. Çalışma sonucunda birçok yabancı ot tohumunun hasat edilen mercimek tohumlarına karıştığı belirlenmiştir. Amaca uygun kalibre edilebilen tohum ayıklama cihazlarının geliştirilmesi mercimek tohumluğu ile taşınan yabancı ot tohumları engellenerek kültürel mücadeleye katkı sağlaması beklenmektedir. Üretilen tohumların temiz olması ürünün kalitesini ve pazar değerini

de artıracaktır. Üreticilerin yabancı ot tohumlarından arı sertifikalı mercimek tohumluğu kullanması teşvik edilerek yabancı otların tekrar tohumlukla tarlaya dağılması önlenabilir. Ayrıca herbisitlere toleranslı mercimek çeşitleri yetiştirilerek yabancı otlarla daha etkin bir mücadele yapılabilir.

Teşekkür ve Bilgilendirme

Bu çalışma Malatya Turgut Özal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 191415 proje numarası ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Malatya Turgut Özal Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) birimine teşekkür ederiz. Ayrıca Diyarbakır Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve Dr. Erdal ATEŞ'e katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Aksoy, E., Arslan, Z. F., Eymirli, S., Tetik, Ö., Bayraktar, Ö. V., Armağan, G. (2014). Gaziantep ve Kilis illeri kırmızı mercimek tarlalarındaki canavar otlarının [*Orobanche crenata* Forsk. ve *Phelipanche aegyptiaca* (Pers.)] yaygınlığı, yoğunluğu ve üreticilerin yabancı ot sorunlarına yaklaşımları. Bitki Koruma Bülteni, 54(2): 115-132.
- Arslan, Z. F., Altun, A. A., Bilgili, A. (2017). Türkiye mercimek (*Lens culinaris* Medik.) üretimindeki yabancı ot sorunlarının dünü, bugünü ve yarını Şanlıurfa örneği. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5(11): 1312-1322.
- Ateş, E. (2017). Batman ve Şanlıurfa Buğday Alanlarında Bulunan Yabancı Otlar İle Yabani Hardal (*Sinapis arvensis* L.) ve Kısır Yabani Yulaf (*Avena sterilis* L.)'ın Bazı Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay
- Ateş, E., Üremiş, İ. (2020). Şanlıurfa ili buğday ekim alanlarında bulunan yabancı ot türlerinin, yaygınlık ve yoğunluklarının belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 24(1): 33-43.
- Aydoğan, A., Gürbüz, A., Akan, K., Kon, H.İ.F., Mert, Z., Özer, G.Ç. (2016). Mercimek (*Lens culinaris* M.) Germplasmında Herbisit Toleransı için Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi, Tarla bitkileri Merkezi Araştırma Enstitüsü Dergisi, 25 (Özel sayı-1):165-170.
- Ballı, H. M. (2018). Diyarbakır mercimek üretim alanlarında sorun olan yabancı ot türlerin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- Baş, A. (2011). Doğu Karadeniz bölgesinde buğday ürününe karışan yabancı ot tohumlarının tespiti ve dağılımları. (Yüksek Lisans Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Baytop, T. (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 1039,
- Beniwal, S.P.S., Kaiser, W.J., Dalkıran, H. (1995). Biotic constraints to the production of lentils and their management in the highlands of West Asia and North Africa. Ed. J.D.H. Keating and I Küsmenoğlu. Ankara.
- Bora, T., Karaca, I. (1970). Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı, 167-43, İzmir.
- Bukun, B. Guler, B.H. (2005). Densities and importance values of weeds in lentil production. International Journal of Botany, 1(1): 15-18.
- Bükün, B., Kahraman, A. (2014). Türkiye'de clearfield mercimek. Türkiye 5. Uluslararası Katılımlı Tohumculuk Kongresi, 19-23 Ekim, 700s, Diyarbakır.
- Elkoca, E., Kantar, F., Zengin, H. (2005). Weed control in lentil (*Lens culinaris*) in eastern Turkey. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 33(3): 223-231.

- Erman, M., Tepe, I., Bükün, B., Yergin, R., Taskesen, M., (2008). Critical period of weed competition in spring lentil (*Lens culinaris*) under non-irrigated rainfed conditions. *Indian Journal of Agricultural Science*, 78(10): 893-896.
- FAO, (2022). Food and Agriculture Organization of The United Nations Statistics Division [Http://Faostat.Fao.Org](http://faostat.fao.org). (Erişim Tarihi 16.08.2022).
- Gökalp, Ö., Üremiş, İ. (2015). Mardin’de buğday ürününe karışan yabancı ot tohumlarının belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1): 23-30.
- Güncan, A. (2002). Anadolu’nun doğusunda buğday ürününe karışan yabancı ot tohumları ve bunların yoğunlukları. *Konya Ticaret Borsası Dergisi*, 5(11): 36-41.
- Güncan, A., Karaca, M. (2018). *Yabancı Ot Mücadelesi (Güncellenmiş ve İvelveli Dördüncü Baskı)*. Konya: Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi.
- Kaçan, K., Tursun, N. (2015). Balıkesir ve Çanakkale illerinde buğday ürünü içerisine karışan yabancı ot tohumlarının belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(2): 248-259.
- Kantarıcı, Z. (2004). Kahramanmaraş, Adıyaman ve Gaziantep illerinde buğday ürününe karışan yabancı ot tohumlarının belirlenmesi üzerine araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Kordali, Ş., Zengin, H. (2009a). Bayburt ili mercimek ekim alanlarında görülen yabancı otların yoğunlukları, yaygınlıkları ve topluluk oluşturma durumlarının belirlenmesi. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 12(1): 1-24.
- Kordali, Ş., Zengin, H. (2009b). Bayburt İli’nde Arpa, Buğday ve Mercimek Tohumluklarındaki Yabancı Ot Türlerinin Belirlenmesi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 40 (2), 43-55, 2009
- Muzik, T., 1970. *Weed Biology and Control*. Toronto: McGraw, Hill Book Company,
- Mohamed, E.S., Nourai, A.H., Mohamed, G.E., Mohamed, M.I., Saxena, M.C. (1997). Weeds and weed management in irrigated lentil in Northern Sudan. *Weed Research* 37: 211-218.
- Odum, E.P. (1971). *Fundamentals of Ecology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 574 p.
- Önen, H. (2010). Organik ve iyi tarım (EUREP–GAP) uygulamaları. Y. Serin (Ed.), *Küresel İklim Değişimine Bağlı Sürdürülebilir Tarım*, Cilt II, Erciyes Üniversitesi Yayın No: 177, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Yayın No: 1, Fidan Ofset, Kayseri, s. 146-169.
- Önen, H. (2015). *Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu*. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara.
- Önen, H. (2020). *Endüstriyel Kenevirde Hastalık, Zararlı ve Yabancı Ot Mücadelesi*. Fatih/İstanbul: Harf Yayınları, Büyük Reşit Paşa Caddesi, Yümni İş Merkezi No: 22/2
- Özaslan, C. (2011). *Diyarbakır İli Buğday ve Pamuk Ekim Alanlarında Sorun Olan Yabancı Otlar İle Üzerindeki Fungal Etmenlerin Tespiti ve Bio-Etkinlik Potansiyellerinin Araştırılması*. (Doktora Tezi) Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Özaslan, C., Farooq, S., Önen, H. (2017). Broomrape infestation in lentil crop and farmer knowledge on the management of parasitic weed species in Diyarbakir province, Turkey. 26th Asian-Pacific Weed Science Society Conference (296-296), 19-22 September, Kyoto, Japan. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/profile/CumaliOzaslan/publication/321621827_Broomrape_infestation_in_lentil_crop_and_farmer_knowledge_on_the_management_of_parasitic_weed_species_in_Diyarbakir_province_Turkey/links/5a291ca2aca2727dd8872227/Broomrapeinfestation-in-lentil-crop-and-farmer-knowledge-on-the-management-of-parasitic-weed-species-in-Diyarbakir-province-Turkey.pdf
- Özer, Z., Önen, H., Uygur, N.F., Koch, W. (1996). Farklı Kültürlerde Sorun Olan Yabancı Otlar ve Kimyasal Savaşmaları. Tokat: Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 15, Kitap Serisi: 8.
- Özer, Z., Kadioğlu, İ., Önen, H., Tursun, N. (2001). *Herboloji (Yabancı Ot Bilimi)*. Tokat: Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 20, Kitap Seri No: 10.
- Pala, F., Mennan, H., Demir, A. (2018a). Diyarbakır İli Mercimek Ekim Alanlarında Bulunan Yabancı Ot Türlerinin, Yaygınlıklarının ve Yoğunluklarının Belirlenmesi. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 21 (1): 33-42.

- Pala, F., Mennan, H., Çığ, F., Dilmen, H. (2018b). Diyarbakır'da Buğday Ürününe Karışan Yabancı Ot Tohumlarının Belirlenmesi, *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 5(3), 183-190.
- Pamukoğlu, Z. (2011). Kahramanmaraş kırmızıbiber alanlarında sorun olan yabancı otlar ve bunlarla mücadelede kritik periyodun belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Pekşen, E., Artık, C. (2005). Antinutritional Factors and Nutritive Values of Food Grain Legumes. *The Journal of Agricultural Faculty of On dokuz Mayıs University*, 20(2):111-121.
- Sırrı, M. (2020). Siirt ili mercimek (*Lens culinaris* Medic.) ekim alanlarında sorun oluşturan yabancı ot türlerinin yoğunluk ve rastlanma sıklıklarının belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1): 117-126.
- Sırrı, M. (2023). Mercimek (*Lens culinaris* Medic.) Ürününe Karışan Yabancı Ot Tohumlarının Belirlenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 10(2): 220-230.
- Sönmez, S. (1976). Bolu ilinde Patateslerde Yabancı Ot Rekabeti ve Savaşı Üzerine Araştırmalar. *Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü teknik bülten*; no:11, s:104.
- Şehirali, S. (1988). Yemeklik Dane Baklagiller. Ankara: AÜ, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü AÜZF yay. No: 1089, Ders Kitapları Serisi. No: 314.
- Temel, N., Eymirli, S., Aksoy, F., Arslan, F., Tetik, Ö. (2012). Kırmızı mercimek (*Lens culinaris* Medic.)'te sorun olan canavar otu (*Orobanche aegyptiaca* Pers. ve *O. crenata* Forsk.) mücadelesinde en uygun ekim zamanı ve çeşidin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(2): 99-107.
- Tepe, I. (1997). Türkiye'de Tarım ve Tarım Dışı Alanlarda Sorun Olan Yabancı Otlar ve Mücadeleleri. Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Yayınları No:32, Ziraat Fakültesi Yayınları No:18.
- Tepe, I., Erman, M., İpek, K., Yazlık, A., Levent, R. (2002). Van'da yetiştirilen mercimekte sorun olan yabancı otlar ve yoğunlukları. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 5(1): 42-51.
- Tepe, I. (2014). Yabancı Otlarla Mücadele. İzmir: Sidas Medya Ziraat Yayın No: 031.
- Türk M.A., Tawaha A.M. (2003). Weed control in cereals in Jordan. *Crop Protection* 22: 239-246.
- Tursun, N. (1995). Sivas yöresinde hasat şekline bağlı olarak buğday ürününe karışan yabancı ot tohumları üzerinde araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, TOKAT.
- Tursun, N., Özer, Z., Önen, H. (1997). Sivas ve yöresinde hasat şekline bağlı olarak buğday ürününe karışan zehirli yabancı ot tohumları üzerinde araştırmalar. *Türkiye II. Herboloji Kongresi*, 1-4 Eylül, İzmir, s. 369-378.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu, <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim Tarihi:16.08.2022)
- Uludağ, A., Demir, A. (1997). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde hububat-mercimek münavebe alanlarında bulunan bazı turpgiller (Barassicaceae)'in belirlenmesi. *Türkiye II. Herboloji Kongresi*, 1-4 Eylül, İzmir, s. 379.
- Uluğ, E., Kadioğlu, İ., Üremiş, İ. (1993). Türkiye'nin Yabancı Otları ve Bazı Özellikleri. Adana: T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 78,.
- Urbano, G., Porres, J.m., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2007). Nutritional value Shyam, D.m. Philip, and C. Stevenson. *Lentil: An An ancient crop for modern times. XXIV*, Hard cover ISBN: 978-1-4020-6312-1 Netherlands, p.47-93.
- Yenish, J.P., Larsen, R., Pala, M., Haddad, A. (2009). Weed management. the lentil botany, production and uses. Ed: W. Erskin, F.J. Meuhlbauer, Ashutosh Sarker and Balram Sharma. 326pp.
- Zengin, H., Döken, M. T., (1991). Erzurum ve yöresinde mercimek tarlalarında görülen yabancı otların yoğunlukları ve topluluk oluşturma durumları. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim, İzmir, s.153-157.

Atf için: Tatar, M., Bildirici, A.E., Ölmez, F., Mustafa, Z. ve Tozlu, G. (2024). Eski ve Yeni Böcek Örneklerinde Farklı DNA İzolasyon Protokollerinin Karşılaştırılması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 594-603.

To Cite: Tatar, M., Bildirici, A.E., Ölmez, F., Mustafa, Z. & Tozlu, G. (2024). Comparison of Different DNA Isolation Protocols in Old and New Insect Samples. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 594-603.

Eski ve Yeni Böcek Örneklerinde Farklı DNA İzolasyon Protokollerinin Karşılaştırılması

Muhammed TATAR^{1*}, Aslıhan Esra BİLDİRİCİ¹, Fatih ÖLMEZ¹, Zemran MUSTAFA¹, Göksel TOZLU²

Öne Çıkanlar:

- Eski ve yeni böcek örneklerinden genetik materyal izole etmek için üç farklı DNA izolasyon yöntemi (fenol-kloroform, salting out ve DArT Seq) kullanılmıştır.
- İzolasyon yöntemleri zaman ve kalite açısından karşılaştırılmıştır.
- Örnek tipleri için en uygun yöntem olarak fenol-kloroform seçilmiştir.

Anahtar Kelimeler:

- Böcek
- Coleoptera
- Cerambycidae
- DNA İzolasyonu
- Genetik materyal

ÖZET:

Eklem bacaklılar şubesinde yer alan ve 1.000.000'dan fazla tür sayısı ile dünyada en kalabalık hayvan grubu, böceklerdir. Böcekler, bitkileri tozlaştırarak, organik maddeleri ayrıştırarak, toprak dokusunu iyileştirerek ve insanlara besin sağlayarak yeryüzündeki yaşamın sürdürülebilirliğini sağlar. DNA izolasyonu, Sanger dizileme, DNA parmak izi, genom analizi gibi analizlerin yapılabilmesi için bir zorunluluktur. İzole edilmiş böcek DNA örnekleri; tür tanımlama, taksonomik ilişkiler, böcek-bitki ve -mikrofauna ilişkilerinin karşılaştırılması, genomik, popülasyon ve genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılması, biyocoğrafya tespiti, tarımsal zararlılarla mücadele vb. çalışmaların yürütülmesinde kullanılabilir. Bu çalışmada, müze (eski) ve yeni böcek örneklerinden genetik materyal elde etmek için üç farklı izolasyon yönteminin zaman ve kalite açısından karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan örnekler, Cerambycidae familyasından (Coleoptera) aynı böcek türüne aittir. En fazla 9-12 ay önce toplanan numuneler "yeni örnek" olarak kabul edilirken, "eski örnekler" 7-28 yıllık numunelerden oluşmaktadır. Karşılaştırma için, Fenol-Kloroform, Salting Out ve DArT Seq olmak üzere üç farklı DNA izolasyon protokolü takip edilmiştir. Yeni toplanan örneklerde, kalite jeli görüntüleri ve A260/280 ve A260/230 değerleri dikkate alındığında, kalite açısından en iyi sonuçlar fenol-kloroform yöntemi ile elde edilmiştir. A260/280 değerleri tek başına incelendiğinde hem eski hem de yeni böcek örneklerinde saflık açısından DArT seq protokolü en uygun protokol olarak görülmektedir. Zaman açısından, fenol-kloroform yöntemi yaklaşık 2 saat süren en kısa protokoldür. Buna göre, fenol-kloroform yönteminin hem eski hem de yeni böcek örnekleri için daha iyi bir seçim olduğu sonucuna varılmıştır. Konsantrasyon ayarlanmasından sonra elde edilen DNA'lar, sonraki deney aşamaları için kullanılabilir veya -20°C'de stok materyal olarak saklanabilir. Bu bağlamda, kısa sürede yüksek kalite DNA elde etmek için en uygun protokolün belirlenmesi, çalışmaların devamlılığı için önemlidir. Bulgularımız, teşhis ve sistematik durum belirleme çalışmalarına hız kazandırması ve özellikle böcek türlerinin taksonomik ilişkilerinin incelenmesi açısından önemlidir. Klasik taksonomiye ek olarak moleküler taksonominin kullanılması, böceklerin tür bazında tanımlanmasına olarak sağlar. Bu tür çalışmalar, böcek moleküler biyolojisi üzerine çalışan araştırmacılar için faydalı bilgiler üretecektir.

Comparison of Different DNA Isolation Protocols in Old and New Insect Samples

ABSTRACT:

Insects belong to the Arthropoda phylum and are the most numerous animal group in the world, with more than 1.000.000 species. Insects ensure the sustainability of life on earth by pollinating plants, improving soil texture by decomposing organic materials, and providing nutrients to humans. DNA isolation is a necessity for performing analyses such as Sanger sequencing, DNA fingerprinting, and gene-genome analysis. Isolated insect DNA samples can be used to carry out studies such as species identification, taxonomic relations, comparison of insect-plant and -microfauna relations, revealing genomic, population, and genetic diversity, bio-geography determination, combating agricultural pests, etc. In this study, it is aimed to compare three different isolation methods in terms of time and quality for obtaining genetic material from museum samples (old) and new samples of insects. The samples used in this investigation belong to the same insect species of Cerambycidae family (Coleoptera). Samples collected at most 9-12 months ago are considered as "new specimen", whereas "old specimens" consist samples of 7-28 years old. Three DNA isolation protocols: Phenol-Chloroform, Salting Out and DArT seq, are compared in this study. Considering quality gel images and A260/280 and A260/230 values in newly collected samples, the best results in terms of quality were obtained with the phenol-chloroform method. When A260/280 values were examined alone, DArT seq protocol appears to be the most appropriate protocol in terms of purity in both old and new insect samples. In terms of time, the Phenol-chloroform method was found to be the shortest protocol lasting for about 2 h. Accordingly, the phenol-chloroform method was deduced to be the better choice for both old and new insect samples. After concentration adjustments, the obtained DNAs can be used for the next experimental stages or stored as stock material at -20 °C. Determining the appropriate protocol to obtain high-quality DNA in a short time is important for the continuation of the studies. Our findings are important in terms of accelerating the studies for identification and determining systematic status and especially in examining the taxonomic relationships of the insect species. Using molecular taxonomy in addition to classical taxonomy allows the identification of insects on a species basis. These types of studies will generate useful information for researchers who study insect molecular biology.

Highlights:

- Three different DNA isolation methods (phenol-chloroform, salting out and DArT Seq) were used to isolate genetic material from old and new insect samples
- Isolation methods were compared in terms of time and quality
- Phenol-chloroform was chosen as the most appropriate method for the sample types

Keywords:

- Insect
- Coleoptera
- Cerambycidae
- DNA isolation
- Genetic material

¹Muhammed TATAR (Orcid ID: 0000-0002-8312-8434), Aslıhan Esra BİLDİRİCİ (Orcid ID: 0000-0003-2438-3723), Fatih ÖLMEZ (Orcid ID: 0000-0001-7016-2708), Zemran MUSTAFA (Orcid ID: 0000-0002-1754-6320), Sivas Science and Technology University, Faculty of Agricultural Sciences and Technology, Sivas, Türkiye

²Göksel TOZLU (Orcid ID: 0000-0002-7187-7825), Ataturk University, Faculty of Agriculture, Erzurum, Türkiye

*Corresponding Author: Muhammed TATAR, e-mail: mtatar@sivas.edu.tr

The article was presented orally at the "5th International Conference on Life and Engineering Science" held in Alanya on May 19-22, 2022.

INTRODUCTION

Insects, belong in the phylum of Arthropoda, are the most numerous animal group, with more than one million described species that can be found almost everywhere in the world. They ensure the sustainability of life on earth by pollinating plants, decomposing organic matter, improving soil texture and providing nutrients to humans. Turkey boasts a diverse flora and fauna, with numerous endemic species, especially insect species, as it is partly located within the borders of three quarters of the Europe and Central Asia warm regions (Caucasus, Iran-Anatolia and Mediterranean Basin). Especially, the family of Cerambycidae (Insecta: Coleoptera) contains genera with a high number of endemic species. In addition to endemic species, there are harmful species among Cerambycidae species. Many species that cause economic damage to cultivated plants and forest trees, there are also species that feed on weeds and undertake important tasks in terms of biological control (Lodos, 1998).

It is a well-known fact that faunistic and systematic studies have a very important place in biological sciences and that most of the biological sciences have difficulty in interpreting their own findings without a systematic order (Lodos, 1998). Faunistic and systematic studies have been started many years ago in developed countries, and a great deal of progress has been made on the distribution areas and host determination of existing insect and other animal species (Tozlu, 1997).

The presence of a large number of subspecies in addition to the species in the existing catalogs indicates that the classical classification is insufficient for species identification. Therefore, in addition to making use of classification based on measuring body parts separately and proportioning to each other in some insects, electron microscopy techniques, which are based on examining the detailed structure of a certain organ or region of insects, were also used in insect systematic applications. However, electron microscope techniques are not preferred because of their cost. In recent years, molecular marker systems have been developed for the diagnosis of species that cannot be separated from each other, especially with classical systematic applications (Güz and Kılınçer, 2012). The use of molecular techniques in the classification of insects has added a new dimension to insect systematics. In addition to the definitive diagnosis of the species, existing in a habitat with molecular techniques, the proportional, morphological, physiological, nutrition, reproduction, population density, etc. changes of the species in the evolutionary process over time can be revealed. For this reason, the use of molecular taxonomy together with classical classification for the identification of individuals on the specie basis should be supported.

Based on this basic information, this study aimed to isolated DNA from Cerambycidae type insects from the Coleoptera family, which is likely to have a large number of endemics, harmful and sub-species content in Turkey. The insect was also preferred because it has an exoskeleton and a hard structure and contains plenty of chitin, in order to evaluate the difficulties in obtaining genetic material. Thus, three different isolation protocols were followed for isolation: Phenol-chloroform (Gammel and Akiyama, 1996), DarT Seq and Salting Out (Aljanabi and Martinez, 1997), to be examined for their different advantages. These isolation protocols were preferred because they are the most frequently used methods in standard genetic material isolation experiments in molecular genetics laboratories and also because they are applied to different samples in our current laboratory due to their various advantages (cost, time, quality, ease of application, etc.).

MATERIALS AND METHODS

Collecting insects

The new samples collected from the provinces of Ağrı, Ardahan, Bayburt, Bingöl, Erzurum, Iğdır, Kars and Muş, which are a gateway region for Transcaucasia, Mesopotamia and Anatolia with the Eastern Anatolia Region (by Muhammed Tatar) in April-September 2021. The samples were generally

collected from gorges and forest areas, grass areas in rural areas, under stones, over bush or flowering plants. Trap, Japanese umbrella, sapirator and pit traps (for 1 liter mixture; 900ml of water, 100 ml of red wine, 25 ml of vinegar and 25 g of sugar) are the methods used in the material collection. The old samples previously collected and preserved in the Entomology Museum (Atatürk University, Erzurum, Türkiye) (by Göksel Tozlu). The old samples were also collected with the help of the same methods and kept under room conditions in the museum. The name and localization of the samples are represented in Table-1, and photographs of the species are given in Figure-1.

Laboratory Studies

Taxonomic study on insect

The Cerambycidae samples, which were brought with proper preservation, were pinned in the laboratory with insect needles suitable for their size (approximately 1/3 of the needle remains on top) or affixed one by one on insect sticking cards of appropriate sizes.

Pictures of the dorsal, lateral, and ventral views of the specimens at Atatürk University, Biodiversity Application and Research Center were combined using Leica Macroscope, Canon 70 DSLR camera, Canon EOS utility program and Adobe Photoshop CS6 program. Some photos were taken with Canon EOS 1100D camera, Canon EF 100 mm, f/2.8L Macro lens, Kaiser digital shooting unit and combined using Helicon focus 6.7.1 program on Lenovo brand computer (Figure 2). The specimens prepared for collection were kept in Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection Entomology Museum (EMET) and in personal insect storage cabinets.

Table 1: Samples' names and localization

| Samples Number and Name | Material Examined | |
|---|---|--|
| | New species (N) | Old species (O) |
| 1) <i>Dorcadion (Cribridorcadion) wagneri karayaziense Bernhauer and Peks, 2016</i> | Türkiye, Erzurum Prov., Yakutiye Dist., Akdağ Village, 1915 m, 07.V.2021, M. Tatar. | Türkiye, Erzurum Prov., Atatürk Üniv., 1850 m, 39° 54' 4.51"N - 41° 14' 53.46"E, 30.IV.2019, M. Tatar. |
| 2) <i>Vadonia bitlisiensis Chevrolat, 1882</i> | Türkiye, Erzurum Prov., Çat Dist., Çirişli Pass, 2200 m, 14.VII.2021, M. Tatar. | Türkiye, Erzurum Prov., Ilica Dist., Ağzıaçık Pass, 2050 m, 19.VII.2005, G. Tozlu. |
| 3) <i>Cerambyx (Cerambyx) cerdo cerdo L., 1758</i> | Türkiye, Bingöl Prov., Solhan Dist., Buğlan Pass, 1805 m, 23.VI.2021, M. Tatar. | Türkiye, Bingöl Prov., Solhan Dist., Buğlan Pass, 2120 m, 25.VI.2005, G. Tozlu. |
| 4) <i>Aromia moschata ambrosiaca Steven, 1809</i> | Türkiye, Erzurum Prov., Karayazı Dist., Göksu, 2267 m, 03.VIII.2021, M. Tatar. | Türkiye, Kahramanmaraş Prov., Central Dist., 673 m, 13.VI.2000, G. Tozlu. |
| 5) <i>Cortodera flavimana corallipes Pesarini & Sabbadini, 2009</i> | Türkiye, Bayburt Prov., Central Dist., Kop Pass, 2250 m, 15.VI.2021, M. Tatar. | Türkiye, Erzurum Prov., Ilica Dist., Atlıkonak, 1900 m, 1.VI.2000, G. Tozlu. |
| 6) <i>Cortodera alpina armeniaca Pic, 1898</i> | Türkiye, Muş Prov., Hasköy Dist., 1273 m, 20.V.2021, M. Tatar. | Türkiye, Erzurum Prov., Ilica Dist., Atlıkonak, 1900 m, 1.VI.2000, G. Tozlu. |
| 7) <i>Chlorophorus (Immaculatus) varius varius O.F. Müller, 1766</i> | Türkiye, Erzurum Prov., Olur Dist., Yeşilbağlar, 1200 m, 16.VI.2021, M. Tatar. | Türkiye, Erzincan Prov., Üzümlü Dist., 1279 m, 24.VI.1994, G. Tozlu. |
| 8) <i>Pachytodes erraticus Dalman, 1817</i> | Türkiye, Erzurum Prov., İspir Dist., Madenköprübaşı, 1400m, 13.VII.2021, M. Tatar. | Türkiye, Kars Prov., Sarıkamış Dist., Akkurt, 1400m, 23.VI.2000, G. Tozlu. |



a



b



c



d



e



f



g



h

Figure 1: Samples. [a] *Dorcadion (Cribridorcadion) wagneri karayaziense* Bernhauer and Peks, 2016, b) *Vadonia bitlisiensis* Chevrolat, 1882, c) *Cerambyx (Cerambyx) cerdo cerdo* L., 1758, d) *Aromia moschata ambrosiaca* Steven, 1809, e) *Cortodera flavimana corallipes* Pesarini & Sabbadini, 2009, f) *Cortodera alpina armeniaca* Pic, 1898, g) *Chlorophorus (Immaculatus) varius varius* O.F. Müller, 1766, h) *Pachytodes erraticus* Dalman, 1817

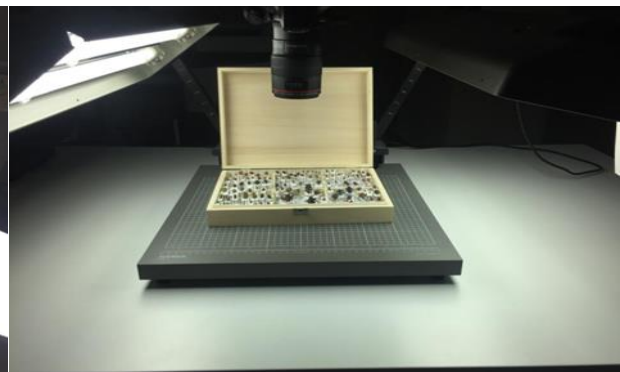


Figure 2: Imaging unit and insect containment box

The identification of the species was made by experts (Pierpaolo Rapuzzi [Prepotto, Italy], Mikhail Leontievitch Danilevsky [Moscow, Russia] and Maxim A. Lazarey [Moscow, Russia]).

Insect DNA Isolation Studies

Phenol-chloroform method (Protocol-1)

Frozen in liquid nitrogen, front and hind legs or the whole body were grinded in the eppendorf tubes with a micropestle. The samples were homogenized by adding 100 µl 2% SDS buffer and then 700 µl more 2% SDS buffer and 15 µl proteinase-K (10 mg/ml) were added. The samples were rotated in a water bath at 60°C for 30 minutes for cell lysis. Then, one volume (~800 µl) phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) was added in the fume hood and shaken very well. The samples were centrifuged at 13000xg for 5 minutes at room temperature. The supernatant (upper phase, ~700 µl) was taken from a new eppendorf tube. To remove phenol residues, one volume of chloroform:isoamyl alcohol was added and shaken well and centrifuged at 10000xg for 5 minutes at room temperature. Approximately 600 µl of the supernatant was taken into a new eppendorf tube. To precipitate the total genomic DNA, 0.7 volume of 100% isopropanol was added and mixed well. The samples were incubated in the freezer for 30 minutes and then centrifuged at maximum speed for 30-45 minutes at 4°C to precipitate the DNA pellets. Isopropanol was removed and 70% ethanol (1 ml) was added to wash the pellet and centrifuged for 5 minutes at 1000xg at 4°C. The ethanol was removed, and the pellets were allowed dry and then dissolved in 20-50 µl Tris-Cl (pH=8.0) buffer.

Preparation of SDS buffer: (200 mM Tris-HCl (pH:8.0), 400 mM NaCl, 10 mM EDTA, %2 SDS at pH: 8.2) Dissolve 10 g SDS in 300 ml ddH₂O (if necessary, heat up to 40 °C), add 1,4612 g EDTA or 10 ml of 500 mM EDTA, add 11,684 g NaCl, add 12,114 g TRIS, adjust pH with NaOH or HCl, add ddH₂O up to 500ml.

Salting out method (Protocol-2)

Frozen in liquid nitrogen, front and hind legs or the whole body were grinded in the eppendorf tubes with a micropestle and then 400 µl TNE buffer was added and homogenized for 10-15 seconds. The lysate, which was mixed with 40 µl 20% SDS and 8 µl proteinase-K (20 mg/ml), was incubated overnight at 37°C by inverting at regular intervals. After incubation, the lysate was centrifuged at 10000xg for 30 minutes and the supernatant was taken into a new eppendorf tube, 0.1 volume 5M sodium acetate (pH=5.2) was added and vortexed for 10-15 seconds. The tubes were incubated at -20°C for 20 minutes and then centrifuged at 16000xg for 20 minutes at 4°C. The supernatant was taken into a new 1.5 ml eppendorf tube and two volumes of 98% ethanol were added. The gently inverted samples were incubated at -20°C for 15 minutes. By centrifugation at 16000xg at 4°C for 20 minutes, the DNA pellets were precipitated and after the ethanol was carefully removed, this time was washed with 70% cold ethanol. After centrifugation at 16000xg at 4°C for 6 minutes, the alcohol was removed, and the pellets were left to dry overnight at room temperature. The dried pellets were dissolved in 50 µl 1XTE (ingredients) buffer.

Preparation of TNE buffer (500 mL): 40 mL 5 M NaCl, 5 mL 1 M Tris-HCl (pH:8.0), 2 mL 0.5 M EDTA (pH:8.0) and add 453 mL ddH₂O on the mixture.

DArT seq method (Protocol-3)

Frozen in liquid nitrogen, front and hind legs or the whole body were grinded in the eppendorf tubes with a micropestle and 1 ml fresh buffer, preheated to 65°C, was added. The tubes were incubated at 65°C for 1 hour by inverting for 10 seconds at 10 minutes intervals. It was then centrifuged at 13500xg at room temperature for 15 minutes and the supernatant was taken into a new eppendorf tube. 1 ml chloroform:isoamyl alcohol (24:1) was added and inverted at room temperature for 30 minutes. After centrifugation at 13500xg at room temperature for 15 minutes, approximately 700 µl of the supernatant

Comparison of Different DNA Isolation Protocols in Old and New Insect Samples

was taken into a new eppendorf tube and 800 µl of cold isopropanol alcohol was added. The samples, which were slowly inverted ten times, were incubated for 10 minutes at room temperature and centrifuged at 13500xg for 30 minutes at room temperature to precipitate the DNA pellets. The supernatant was removed and for washing pellet, 1 ml of 70% ethanol was added and centrifuged at 13500xg for 10 minutes at room temperature. The supernatant was removed, and the pellets were allowed to dry overnight at room temperature. Dried pellets were dissolved in 100 µl ddH₂O.

Table 2: Comparison of isolation methods

| Phenol-chloroform method (Protocol 1) | Salting out method (Protocol 2) | DArT seq method (Protocol 3) |
|---|--|---|
| Homogenization with liquid nitrogen Add 800 µl SDS buffer + 15 µl proteinase K (10 mg/mL) 30 min. at 60 °C in hot water bath with rotor Add 1 volume phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) | Homogenization with liquid nitrogen Add 400 µl TNE buffer and homogenize for 10-15 seconds. Add 40 µl % 20 SDS and 8 µl 20 mg/mL proteinase K and mix. incubated at 37°C for overnight. | Homogenization with liquid nitrogen Add 1 mL extraction buffer Invert tubes gently and vortex for 10 sec. Incubate tubes at 65 °C for 1 h. Invert tubes every 10 min. |
| Centrifuge 5 min. at 13000g at room temperature Take the upper phase bring to 2 mL eppendorf tube. | Centrifuge at 10000 g for 30 min. Take the supernatant to 2 mL eppendorf tube. | Centrifuge tubes at 13 500g at room temperature for 15 min. Transfer the supernatant to new 2 mL eppendorf tube and add 1 mL of chloroform:isoamyl alcohol (24:1). |
| Add 1 volume chloroform:isoamyl alcohol. | Add 0.1 volume of 5 M sodium acetate and mix by vortexing for 10-15 seconds. | Invert tubes for 30 min at RT slowly and centrifuge tubes at 13500g at room temperature for 15 min. |
| Centrifuge 5 min. at 10000g at RT | Hold the tubes at -20 °C for 20 min. | Add 800 µl of cold isopropanol to new 1.5 mL eppendorf tubes. |
| Collect the upper phase bring to 1.5 mL eppendorf tube. Add 0.7 volume of % 100 isopropanol. | Centrifuged at 16000 g for 20 min. at 4 °C. Collect the supernatant bring to 1.5 mL eppendorf tube and add 2 volumes of 98% cold ethanol to tube. | Take the upper phase and add to the new tube having isopropanol. Invert tubes 10 times very slowly. Incubate at room temperature for 10 min. Centrifuge tubes at 13500g at room temperature for 30 min. |
| Put it 30 min in the freezer. | Hold it at -20 °C for 15 min. | Discard the supernatant carefully and add 1 mL of % 70 cold ethanol. |
| Centrifuge at 4 °C for 30-45 min | Centrifuge at 16000g for 20 min at 4 °C. | Centrifuge tubes at 13500g at room temperature for 10 min. |
| Wash the DNA pellet by adding 1 mL of % 70 ethanol. Centrifuge 5 min. at 4 °C at 10 000g. | Remove the supernatant and add 70% cold ethanol. Centrifuge at 16000g for 6 min at 4 °C and remove the alcohol. | Discard the supernatant carefully. Dry pellets at room temperature in tubes, with open caps overnight. The awaited samples are dissolved in 100 µl ddH ₂ O. |
| Samples are kept at room temperature for one night. The awaited samples are dissolved in in 20-50 µl Tris buffer (without EDTA). | Samples are kept at room temperature for one night. The awaited samples are dissolved in 50 µl 1 X TE buffer. | |

Preparation of Fresh buffer (30mL): Add 0.15 g sodiumdisulfit and 0.6 g PVP-40 to 12.5 mL Extraction buffer and dissolve; add 12.5 mL Lysis buffer stock and 5 mL sarcosyl stock.

Preparation of Extraction buffer: 0.35 M sorbitol, 0.1 Tris-HCl (pH:8.0) and 5 mM EDTA (pH: 8.0).

Preparation of Lysis buffer: 0.2 M Tris-HCl (pH:8), 0.05 M EDTA (pH:8.0), 2 M NaCl and. - 2 % CTAB. The protocols are summarized comparatively in Table-2.

Time required for homogenization was approximately 15 minutes. The pellet was incubated overnight at room temperature to remove alcohol from the pellet. These two steps are common to all three protocols.

Concentration and Purity Measurement

For determine the estimated concentrations of the isolated DNA samples, 1% agarose gel was used. Accordingly, 20 and 50 ng lambda DNAs were used as markers and concentrations were estimated based on the band brightness of the DNA samples loaded on the gel. Also, concentration measurements were supported by NanoDrop, a spectroscopic method. In addition, the purity levels of the isolated DNA were determined by measuring the absorbance values at 260, 280 and 230 nm. NanoDrop measurements were performed in triplicate using a blank.

RESULTS AND DISCUSSION

Protocol-1 was lasted 1 hour 45 minutes, Protocol-2 was lasted 13 hours 51 minutes, and Protocol-3 lasted 1 hour and 50 minutes. When the 1st and 3rd protocols were evaluated in terms of time, it was seen that they were the most efficient protocols.

For Protocol-1, it was observed that good results were obtained in the quality gel from six of the new samples and one of the old samples (Figure 3). The images were obtained from both old and new individuals of the first sample, *Dorcadion (Cribridorcadion) wagneri karayaziense* Bernhauer and Peks 2016. The reason for using the old specimen of *D. (C.) wagneri karayaziense* in all three protocols is that it is more recent than individuals of other species. According to the 1% agarose gel image, the obtained DNA concentration is in the range of 15-20 ng/ μ l compared to 20 ng lambda DNA used as a marker. According to the gel image, Protocol-1 appears to be suitable for new samples.

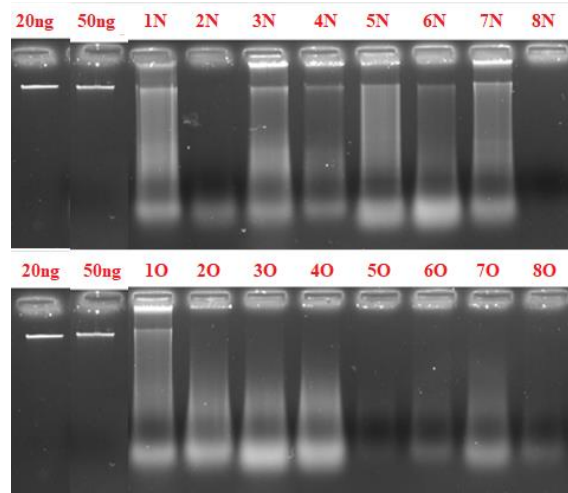


Figure 3: 1% agarose gel images for Protocol-1 (Phenol-chloroform method). [N: new sample, O: old sample]

Protocol-2: 1% agarose gel images were obtained from five of eight new specimens and two of old museum specimens (Figure-4). The DNA concentration obtained according to the 1% agarose gel image is in the range of 10-15 ng/ μ l, compared to 20 ng lambda DNA used as a marker.

For Protocol-3, it was observed that good results were obtained in the quality gel from three of the new samples and two of the old samples (Figure 5). The DNA concentration obtained according to the 1% agarose gel image is in the range of 10-15 ng/ μ l, compared to the 20 ng lambda DNA, used as a marker.

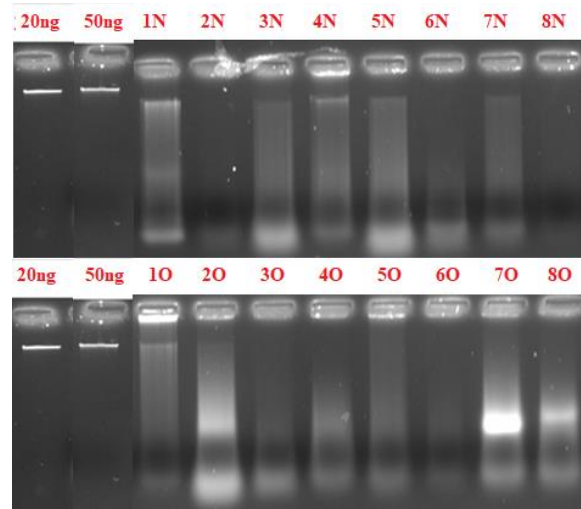


Figure 4: 1% agarose gel images for Protocol-2 (Salting out method). [N: new sample, O: old sample]

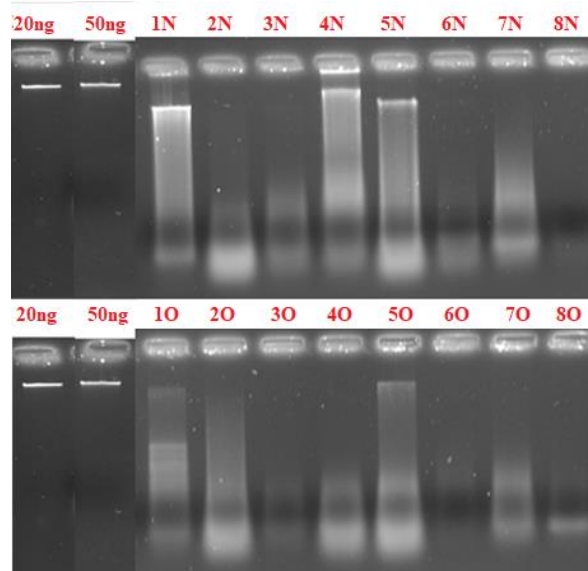


Figure 5: 1% agarose gel images for Protocol-3 (DArT seq method). [N: new sample, O: old sample]

Concentration of the isolated DNA with different protocols was determined qualitatively by 1% agarose gel electrophoresis method. According to the agarose gel images, the isolation method used in Protocol-1 was found to be successful in new individual samples.

In addition to quality gel images, concentration and purity measurements of the isolated DNA samples were confirmed using NanoDrop, a spectroscopic method (Table 3).

The absorbance at 260nm and 280nm is used to evaluate the purity of DNA and RNA. A ratio of ~ 1.8 is generally considered “pure” for DNA. In either case, at 280nm, if the ratio is significantly low or close, it may indicate the presence of strongly absorbing protein, phenol or other contaminants. And again, the A_{260}/A_{230} ratio gives information about nucleic acid contamination. The A_{260}/A_{280} value obtained in the new samples in the protocol shows that the DNA is of pure quality. When the A_{260}/A_{280} values are examined, that the Phenol-chloroform and the DArT seq protocols are the most appropriate protocols in terms of purity for old and new insect samples. The A_{260}/A_{230} absorbance value of the DNA obtained by using Protocol-1 in new individual samples was in the normal range. According to the A_{260}/A_{280} value obtained for the museum samples, it was determined that the DNA was of good quality for some individuals and poor for others. While Protocol-2 gave acceptable results in terms of purity for new samples, A_{260}/A_{280} values for the old samples ranged from 1.1 to 2 and the value could not be read for some of the samples.

Comparison of Different DNA Isolation Protocols in Old and New Insect Samples

Table 3: NanoDrop concentration and absorbance values of samples

| Sample | Cons. (ng/μl) | | | A260/A280 | | | A260/A230 | | |
|--------|---------------|----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|----------|
| | 1. Prot. | 2. Prot. | 3. Prot. | 1. Prot. | 2. Prot. | 3. Prot. | 1. Prot. | 2. Prot. | 3. Prot. |
| 1 N | - | - | 952.2 | - | - | 1.4 | - | - | 1.3 |
| 2 N | 329.38 | 655.3 | 985.6 | 1.7 | 0.9 | 1.9 | 1.9 | 1.1 | 1.4 |
| 3 N | 2020 | 758.5 | 436.3 | 1 | 1 | 1.6 | 2.5 | 1.2 | 1.4 |
| 4 N | 490.39 | 873.4 | 996.2 | 1.9 | 1.8 | 1.7 | 1.9 | 1.5 | 1.3 |
| 5 N | 1202.9 | 1062.4 | 830.4 | 2.1 | 1 | 2 | 2.1 | 1.1 | 1.6 |
| 6 N | 1575.9 | 1402.6 | 231.4 | 2 | 1.5 | 1.7 | 1.9 | 1.6 | 1.6 |
| 7 N | 1428.6 | 862.87 | 943.8 | 1.9 | 1.2 | 2 | 1.9 | 1.3 | 1.8 |
| 8 N | 55.52 | 360.8 | 78.3 | 1.8 | 1.5 | 1.8 | 2.1 | 1.5 | 2 |
| 1 O | - | 1015 | 567 | - | 1.2 | 1.2 | - | 1.2 | 1.1 |
| 2 O | 2145.48 | 1092.8 | 1171.6 | 1.6 | 2 | 2 | 2.9 | 1.7 | 1.8 |
| 3 O | - | - | 403.2 | - | - | 1.3 | - | - | 1.3 |
| 4 O | - | 1873 | 1159 | - | 1.1 | 1.9 | - | 2.1 | 1.7 |
| 5 O | 115.9 | 1239.6 | 118 | 2.9 | 1.15 | 2.4 | 4.2 | 1.26 | 1.9 |
| 6 O | 263.7 | 239.3 | 61.8 | 2.7 | 1.3 | 1.9 | 2.3 | 1.3 | 2.1 |
| 7 O | 776 | - | 379.5 | 1.9 | - | 2 | 2 | - | 1.7 |
| 8 O | 184.2 | - | 134.2 | 2.9 | - | 1.8 | 2.2 | - | 1.5 |

[N: new sample, O: old sample]

A study with a similar concept to our study was conducted by Güler et al. (2018), and nine different DNA isolation methods were compared in terms of PCR success using insect samples. According to the study results, while all methods were successful in the mitochondrial genome, inconsistent results were observed between the methods in the nuclear genome. In PCR amplification of both mitochondrial and nuclear genome regions, phenol-chloroform, salt precipitation and column-based commercial kit methods have been reported to give the best results for PCR. In addition, considering the cost and toxicity of the chemicals used, it has been determined that the salt precipitation method is the most suitable method for DNA isolation from insect tissues.

In another study conducted by Gutierrez-Lopez et al. (2015), manual and semi-automatic DNA isolation methods were compared in louse flies. According to the study results, the phenol-chloroform method was determined as the method with the lowest efficiency. The phenol-chloroform method, which is used as a routine DNA isolation method in many laboratories, is a disadvantageous method due to the extreme toxicity of the chemicals used (Chen et al, 2010). However, when evaluated in terms of the parameters taken into account in the study, it is considered one of the advantageous methods for new insect samples. Salting out and DArT seq protocols have an advantage over the phenol-chloroform method in terms of the toxicity of the chemicals used, however, although the DArT seq protocol is the most successful method for both old and new samples, it is the longest method in terms of time.

Other studies have also been carried out aiming to obtain the maximum amount of DNA from insect samples due to their small size, that is, the lack of starting material (Dittrich-Schröder et al, 2012).

CONCLUSION

The species diversity and population densities of insects are quite high. This can be explained by the fact that insects can adapt to any habitat due to their high adaptability. Because of their beneficial and harmful roles in the ecosystem, these livings are included in research topics not only in basic sciences such as biology, but also in sciences such as biotechnology, agriculture, veterinary medicine, and forensic medicine.

Species identification is extremely important for all fields of biology, from population genetics to environmental sciences studies. Today, DNA barcoding helps determine the definitive diagnosis or species, the changes in the evolutionary process of species, the determination of the genes encoding the enzymes involved in silent processes, and the changes in the defense system they have shown against unsuitable environmental conditions. In addition, thanks to barcoding, the genetic variability and

populations composition, the observation of disease agents, and the geological processes depending on the presence of species in a habit can be explained (Güler et al, 2018). For this reason, in DNA isolation, which is the first step to reveal such data, it is very important to choose an efficient and useful method, as well as an economical method. In this study, the quality of DNA material isolated with different protocols was examined by looking at 1% DNA quality gel images and absorbance values of A_{260}/A_{280} and A_{260}/A_{230} . According to our results, the best DNA material for new samples was isolated by phenol-chloroform method. In addition, according to the absorbance value of A_{260}/A_{280} , Protocol-3 for new and old samples seems to be the appropriate method for DNA isolation.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Aljanabi, S.M.& Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, 25:4692-4693.
- Bense, U. (1995). *Longhorn Beetles, Illustrated key to the Cerambycidae and Vesperidae of Europe*. Germany: Margraf Verlag.
- Chen, H., Rangasamy, M., Tan, S.Y., Wan, H., Siegfried, B.D. (2010). Evaluation of five methods for total DNA extraction from western corn rootworm beetles. *Plos One*, 5:e11963.
- Danilevsky, M.L. (2020). Catalogue of Palaearctic Cerambycoidea. Accessed address: <http://www.cerambycidae.net/catalog.pdf>. (Accessed date: July 12, 2019).
- Dittrich-Schröder, G., Wingfield, M.J., Klein, H., Slippers, B. (2012). DNA extraction techniques for DNA barcoding of minute gall-inhabiting wasps. *Molecular Ecology Resources*, 12(1):109-115.
- Gemmel, N.J., Akiyama, S. (1996). An efficient method for the extraction of DNA from vertebrate tissues. *Trends genet*, 12(9):338-339.
- Gutierrez-Lopez, R., Martinez-de la Puente, J., Gangoso, L., Soriguer Rci Figuerola, J. (2015). Comparison of manual and semi-automatic DNA extraction protocols for the barcoding characterization of hemotophagous louse flies (Diptera: Hippoboscidae). *Journal of Vector Ecology*, 40:11-15.
- Güler, M., Tokgöz, F., Korkmaz, E.M. & Budak, M. (2018). Böcek Dokularından DNA İzolasyonu Yöntemlerinin Kalite, Verim ve Maliyet Açısından Karşılaştırılması. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 44 (2), 135-148.
- Güz, N. & Kılınçer, N. (2012). Usage of molecular markers in insect systematics. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 2 (2): 125-145.
- Lawrence, J. F. (1932). Coleoptera. Parker, S.P. (ed.), in *Synopsis and Classification of Living Organisms. Vol 2*. (482-553 p). USA, New York: McGraw Hill.
- Lodos, N. (1998). *Entomology of TÜRKİYE VI (General, Applied and Faunistic)*. E. Ü. Faculty of Agriculture Press, İzmir: Ege Ü. Ziraat Fak. Yayınları No: 529, 300 p.
- Tezcan, S. (2020). Analysis of the insect fauna of TÜRKİYE and suggestions for future studies. *Munis Entomology & Zoology*, 15 (2), 690-710.
- Tozlu, G. (1997). *Erzurum, Erzincan, Artvin ve Kars İlleri Buprestidae (Coleoptera) Familyası Türleri Üzerinde Faunistik ve Taksonomik Çalışmalar*. (Doktora tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Vives, E. (2000). *Coleoptera, Cerambycidae*. CSIC, Madrid: Fauna Iberica, Museo Nacional de Ciencias naturales, 12, 1-715.

To Cite: Mutlu, D., Kaya Dikici, N., Bozbeyoglu Kart, N. N. & Arslan, S. (2024). Phenolic Acids Modulating Epigenetic Mechanisms in HepG2 Human Hepatoma Cells. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 604-615.

Phenolic Acids Modulating Epigenetic Mechanisms in HepG2 Human Hepatoma Cells

Dogukan MUTLU¹, Nevin KAYA DIKICI¹, Naime Nur BOZBEYOGLU KART², Sevki ARSLAN^{1*}

Highlights:

- The cytotoxicity of CA, FA, and OCA on hepatoma cells was investigated by MTT assay
- Phenolic compounds have reduced the expression levels of HATs, HDACs, and DNMT activity in HepG2 cells
- CA, FA, and OCA were investigated by quantitative analysis of protein and gene expression levels of epigenetic modulatory genes in hepatocarcinoma cells

ABSTRACT:

Phenolic compounds derived from plants exhibit an epigenetic modulatory impact in various cancer types by reversing DNA methylation patterns and chromatin modulation. In this study, caffeic acid (CA), ferulic acid (FA), and o-coumaric acid (OCA) mediated epigenetic alterations in hepatocarcinoma (HepG2) cells were investigated. For this purpose, changes DNMT enzyme activity and protein and mRNA levels of proteins involved in DNA methylation and histone acetylation were determined. The CA, FA, and OCA had cytotoxic activity at 48 h, with an EC50 value of 1.02, 3.1, and 5 mM in HepG2 cells, respectively. All compounds reduces the expression levels of histone acetyl transferases (HATs), histone deacetylases (HDACs) and DNA methyltransferases (DNMTs). All these results showed that phenolic acids may be used in cancer therapy as a potential epigenetic modifier.

Keywords:

- DNA methylation
- Caffeic acid
- Ferulic acid
- O-coumaric acid
- Phenolic compounds

¹Dogukan MUTLU ([Orcid ID: 0000-0003-3259-5822](https://orcid.org/0000-0003-3259-5822)), Nevin KAYA DIKICI ([Orcid ID: 0000-0002-6483-7403](https://orcid.org/0000-0002-6483-7403)), Sevki ARSLAN ([Orcid ID: 0000-0002-4215-5006](https://orcid.org/0000-0002-4215-5006)), Pamukkale University, Faculty of Science, Department of Biology, Denizli, Türkiye

²Naime Nur BOZBEYOGLU KART ([Orcid ID: 0000-0002-7972-919X](https://orcid.org/0000-0002-7972-919X)), Pamukkale University, Plant and Animal Production Department, Tavas Vocational High School, Denizli, Türkiye

*Corresponding Author: Sevki ARSLAN, e-mail: sevkia@pau.edu.tr

INTRODUCTION

Epigenetics explores how cells manage gene expression without altering the DNA sequence itself. (Deans and Maggert 2015). Different epigenetic modifications have the capacity to modify regular cellular functions including cell growth and progression (Shankar et al., 2016; Feinberg et al., 2016). Regulatory mechanisms such as chromatin remodeling, histone modifications, microRNAs, and DNA methylation, coordinate the organization of these cellular processes (Huang et al., 2011; Ong et al., 2012; Ho et al., 2013; Shankar et al., 2016; Wang et al., 2021). Such epigenetic processes disrupt in cancer cells. The overexpression of DNA methyltransferases (DNMTs) was associated with the repression of tumor suppressor genes (TSGs) through DNA methylation at CpG residues in their promoters (Sen et al., 2018; Wang et al., 2021). Similarly, histone proteins undergo modifications by epigenetic enzymes like HDAC, HATs, TETs, and phosphorylases, leading to the activation or repression of gene activity. Any dysregulation may lead to the progression of cancer, as well (Kanwal et al., 2012). In addition, epigenetic alterations such as DNA methylations (hyper- or hypomethylation), disruption of histone modification patterns, changes in chromatin structure, and abnormal expression of long noncoding RNAs (lncRNAs) and micro-RNAs (miRNAs) have been linked to hepatocellular carcinoma (HCC) (Zhang 2015). For these reasons, HepG2 cell line is suitable for studying the effects of epigenetic drug action mechanisms.

Recently, there has been great interest towards epigenetic modification for cancer treatment due to its reversible nature. Several drugs were approved by FDA, such as, vorinostat and belinostat (HDAC inhibitors), and decitabine and azacytidine (DNMT inhibitors) that have shown promising results in myelodysplastic syndromes (MDS) and solid malignancies (SM) (Ho et al., 2013; Shankar et al., 2016; Hillyar et al., 2020). The combined strategy including use of HDAC and DNMT inhibitors at the same time, has proven to be more effective. However, their usage is restricted due to their lower specificity and higher systemic toxicity. Therefore, chemopreventive agents from plants are focused by researchers due to their less side effects.

Previous studies have been reported that plant-derived dietary agents such as curcumin, quercetin, and resveratrol regulate the DNMT and HDAC activities (Yu et al., 2013; Venturelli et al. 2013; Kedhari et al., 2019). Caffeic acid (CA), ferulic acid (FA), and o-coumaric acid (OCA) is naturally found in coffee, fruits, and vegetables (El-Seedi et al., 2012). These phenolic acids exhibit antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative properties (Cheng et al., 2007; Kim et al., 2012). Additionally, they have been reported to inhibit the proliferation of cancer cells by inducing apoptosis, inhibiting the cell adhesion and cellular migration, and enhancing the efficacy of chemotherapy drugs (Li et al., 2012; Sen et al., 2013; Nasr Bouzaiene et al., 2015). Nevertheless, the role of CA, FA, and OCA in epigenome modulation have not been thoroughly investigated. In previous studies, CA and CA phenethyl ester have been shown to inhibit DNA methylation *in vitro* and *in vivo* (Hu et al., 2020; Wang et al., 2020; Kumar et al., 2023). Moreover, HDAC inhibitory activities of CA, FA, OCA, and its derivatives have been investigated on different cancer cells such as breast and cervical cancer cell lines (Waldecker et al., 2008; Wang et al., 2013; Saenglee et al., 2016). In all these studies, it has been reported that CA, FA, and OCA exhibits antiproliferative activity against a human cancer cells through biological mechanisms including modulation of HDAC activity, cell cycle arrest and apoptosis induction. In this regard, this study was undertaken to explore the effect of CA, FA, and OCA on epigenetic enzymes involved in DNA methylation, histone acetylation and deacetylation. Research into the relationship between the consumption of fruits and vegetables and the risk of cancer in humans indicates that dietary phenolic acids may offer protective effects against various types of human

cancers because of higher daily consumption and their diverse mode of action (Anantharaju et al. 2016). But, studies on the effects of phenolic acids on epigenetic mechanisms in HepG2 cells are very limited in the literature. In this regard, the epigenetic modulation of CA, FA, and OCA in HepG2 cells was evaluated first time with present study.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

Dulbecco's Modified Eagle's Media (DMEM) and 2.5% trypsin-EDTA were purchased from Gibco (USA). Pen/strep antibiotic mixture and fetal bovine serum (FBS) were purchased from Capricorn (Germany). Dimethyl sulfoxide (DMSO) was purchased from a Carlo Erba (Italy). Caffeic acid (mol wt. 180.16 g/mol), o-coumaric acid (mol wt. 164.16 g/mol), and ferulic acid (mol wt. 194.18 g/mol) were purchased from Sigma-Aldrich (Germany). MTT reagent was purchased from Biovision (USA).

Cell Culture

HepG2 human hepatocarcinoma cell line was obtained from ECACC. Cells were cultured in DMEM. A complete medium containing 10% FBS and 1% pen/strep mix was used to grow cancer cells at 37 °C in a 5% CO₂ incubator as described previously (Kurt-Kizildogan et al., 2022).

MTT Assay

HepG2 cells (2×10^3 cells per well) were plated in 96 well plates with DMEM and incubated overnight for attachment. After, culture medium was refreshed with DMEM containing various concentrations of CA, FA, and OCA dissolved in 100% DMSO and cells were treated for 48 h. DMEM with 0.5% DMSO was used as a control. MTT assay was used to determine the cell viability (Sahin et al., 2021). The absorbance was determined using a Biotek plate reader at 590 nm (Epoch, USA). EC₅₀ values were calculated using GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, CA, USA) as described previously (Mutlu et al., 2023)

DNMT Activity Assay

Cells (1×10^6) were exposed to EC₅₀ doses of phenolic acids for 48 h. Then, they were collected by centrifugation (2000 rpm for 5 min) and EpiQuik™ Nuclear Extraction Kit (Epigentek, USA) was used for preparing nuclear extracts. This extract was used to measure Methyltransferase Activity (Biovision, USA) according to manufacturer's procedure. The absorbance was measured at 450 nm and standard calibration curve was used to calculate the DNMT activity. Cells treated with only DMSO was used as a control.

RNA Extraction, cDNA Synthesis and RT-qPCR

HepG2 cells (3×10^4 cells) were treated with the phenolic acids at EC₅₀ concentration for 48 h and total RNA was extracted by using commercial kit (innuPREP RNA Mini Kit, Analytik Jena, Germany). 2.5 µg of total RNA was transformed into cDNA (OneScript Plus cDNA Synthesis Kit, ABM, USA). Changes in levels of DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, TET1, HDAC1, HDAC3, and HAT1 mRNAs were determined by SYBR green RT-qPCR assay following the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method as a described previously (Liman et al., 2022). GAPDH was used as a housekeeping gene. The sequence of the primers were presented in Table 1.

Table 1. Primer sequences used for this study

| Genes | Accession number | Primers sequences (5' – 3') |
|--------|------------------|--|
| GAPDH | NM_002046 | F: GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG R: ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA |
| DNMT1 | NM_001379 | F: AGGTGGAGAGTTATGACGAGGC R: GGTAAGAATGCCTGATGGTCTGC |
| DNMT3A | NM_175629 | F: CCTCTTCGTTGGAGGAATGTGC R: GTTTCCGCACATGAGCACCTCA |
| DNMT3B | NM_006892 | F: TAACAACGGCAAAGACCGAGGG R: TCCTGCCACAAGACAAACAGCC |
| TET1 | NM_030625 | F: CAGGACCAAGTGTGCTGCTGT R: GACACCCATGAGAGCTTTTCCC |
| HDAC1 | NM_004964 | F: GGTCCAAATGCAGGCGATTTCCT R: TCGGAGAACTCTTCCTCACAGG |
| HDAC3 | NM_003883 | F: GAGTTCTGCTCGCGTTACACAG R: CGTTGACATAGCAGAAGCCAGAG |
| HAT1 | NM_003642 | F: GGTAGCCTGTCAACAATGTTCCG R: CGTGTTTGTGCAAAATCCAGGTG |

F: Forward, R: Reverse.

Western-blot Analysis

For western-blotting, HepG2 cells (1×10^6) were treated with phenolic acids (EC₅₀ doses) for 48 h. After treatment period, cells were trypsinized and collected by centrifugation. Afterwards, pellet was dissolved in the RIPA buffer and all samples were incubated on ice for 30 min. Then, they were centrifuged at 10000 rpm for 10 min. Protein concentrations were quantified with the BCA Protein Assay Kit (BioVision, USA) by using bovine serum albumin (BSA) as a standard. Cell lysates (100 µg protein) were separated 12% SDS-PAGE as previously described (Laemmli UK 1970). Then, they were transferred to a nitrocellulose membrane (UltraCruz, USA). Following transfer, the membranes were blocked with blocking solution (non-fat dry milk) and then incubated with DNMT3B, HDAC1, HDAC3, HAT1, and TET1 antibodies overnight. After washing with TBST (3 times, 5 min), it was incubated with an ALP conjugated secondary antibody (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) and again washed with TBST. Finally, protein bands were visualized by using the NBT/BCIP substrate system as described previously (Arinc et al., 2005). The band densities were evaluated by densitometric analysis with Scion Image 4.0 and were reported relative to Histone H3 protein level.

Statistically Analysis

The results were expressed as the mean \pm SD of three distinct experimentations using GraphPad Prism 9 software. The data were examined by using student's t-test. The accepted p-value for significance was less than 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Cytotoxicity of phenolic compounds

The MTT assay was used to evaluate the cytotoxicity of phenolic acids against HepG2 cell line. As shown in Figure 1, all phenolic compounds showed a dose-dependent inhibition of cell viability on HepG2 cells after exposure ($P < 0.05$). The EC₅₀ values for 48 h of phenolic acids were found to be 1.02, 3.1, and 5 mM for CA, FA, and OCA, respectively.

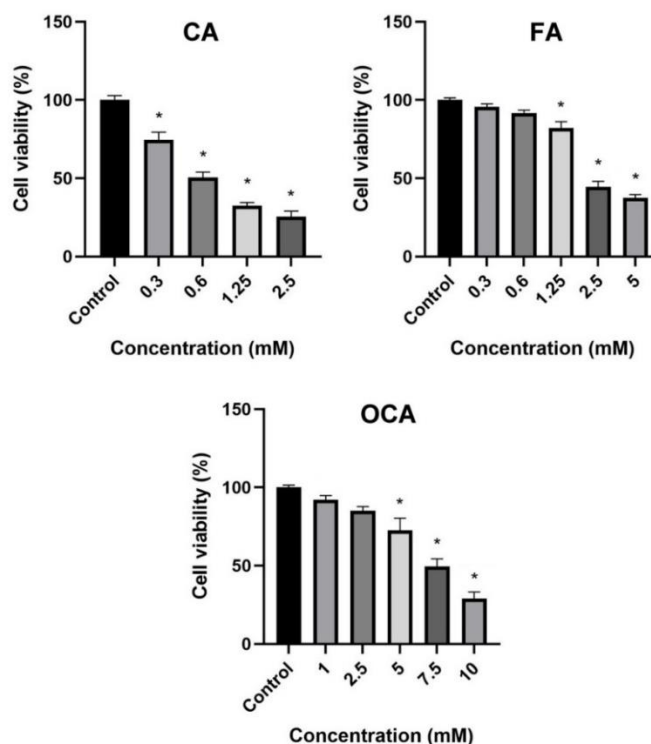


Figure 1. Cytotoxicity of phenolic compounds on HepG2 cell line after 48 h treatment. Data are expressed as the mean \pm SD of each group. * $P < 0.05$

DNMT Enzyme Activity

Tested phenolic acids were inhibited DNMT activity in HepG2 cells (Figure 2). The nuclear extract incubated with EC50 concentration of CA, FA, and OCA resulted in the inhibition of DNMT activity by 55.03, 60.93, and 30.71% respectively ($P < 0.05$).

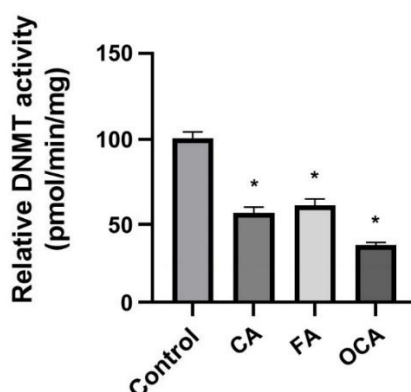


Figure 2. Relative DNMT activity in nuclear extracts of HepG2 cells after 48 h treatment of phenolic compounds. Data are expressed as the mean \pm SD of each group. * $P < 0.05$

Gene Expression Analysis

Following the CA, FA, and OCA treatments to HepG2 cells, changes in the mRNA levels of DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, TET1, HAT1, HDAC1 and HDAC3 genes were determined by the RT-qPCR method (Figure 3). After CA treatment, DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, TET1, HAT1, HDAC1 and HDAC3 mRNA levels were decreased 87.6%, 76.4%, 99.3%, 98.6%, 81%, 96.4% and 87.8% in HepG2 cells ($P < 0.05$). Similarly, 64%, 49.3%, 84.5%, 95.6%, 36.7%, 89.4% and 69.1% decreases were observed in mRNA levels of the same genes after FA treatment, respectively.

Moreover, OCA treatment was caused 64.4%, 48.6%, 91.2%, 76.1%, 36.9%, 97.2% and 80.8% decreases mRNA levels of the same genes in HepG2 cells ($P < 0.05$).

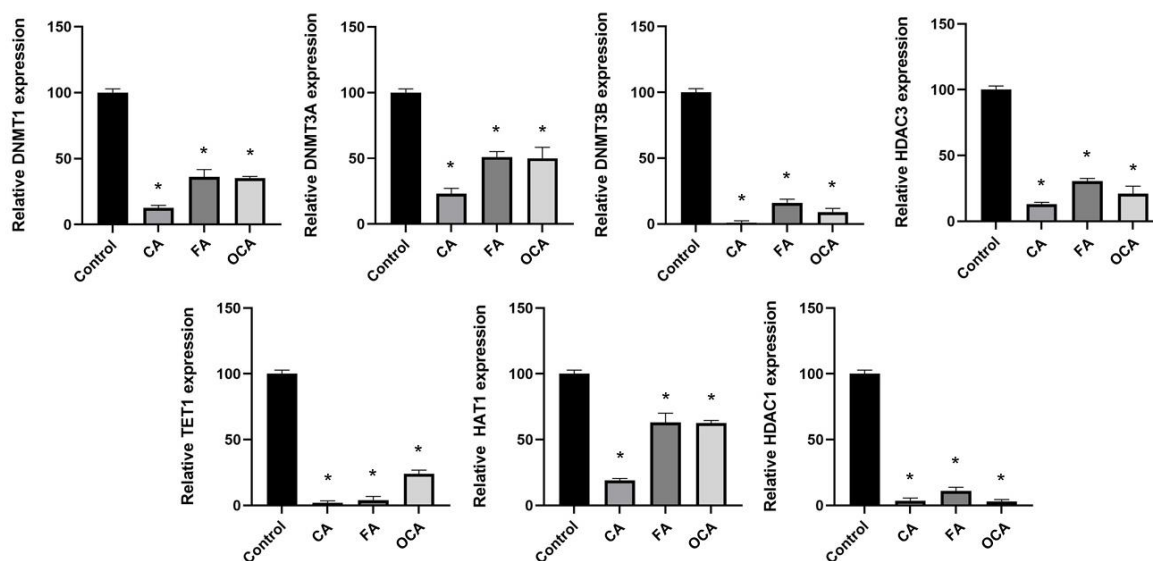


Figure 3. Relative gene expression of HepG2 cells after 48 h treatment with phenolic compounds for 48 h by RT-qPCR. GAPDH was used as an internal control. * $P < 0.05$

Protein Levels Expression

Western blot analysis was performed to measure the levels of DNMT3B, HDAC1, HDAC3, HAT1, and TET1 in HepG2 cell line. As shown in Figure 4, treatment with phenolic compounds at a concentration of EC50 reduced the TET1, HDAC3, and HAT1 expression in HepG2 cells ($P < 0.05$). Similar results were obtained by FA and OCA treatment. FA, and OCA were caused a 26.4% and 26.8% decrease in HDAC1 protein level, respectively. They were caused a decrease in DNMT3B protein level by 21.9% and 70.9%, respectively. On the contrary, after CA treatment, DNMT3B protein expression was increased 76% in HepG2 cells ($P < 0.05$). Moreover, HDAC1 protein expression was increased 9% after CA treatment, but it is not found statistically significant.

Drugs currently targeting critical epigenetic enzymes like HDACs and DNMTs are available. However, these synthetic drugs have disadvantages due to their side effects and drug resistance (Galicia-Moreno et al., 2021; Mondal et al., 2022). Therefore, it is crucial to exploring plant-based natural agents, capable of regulating various intracellular activities, including epigenetic mechanisms. These compounds have a potential to reverse epigenetic patterns associated with malignancy (Thakur et al., 2014; Shukla et al., 2014).

Moreover, plant-based natural agents taken by diet have got great interests in the field of epigenetics. A number of bioactive dietary components have been identified with potential in treating and preventing diseases (Yao et al., 2011; Busch et al., 2015; Rodríguez-García et al., 2019). In fact, various phytochemicals from natural sources have been shown to exhibit anticarcinogenic activities and may play a role in regulating cellular processes (Busch et al., 2015; Selvakumar et al., 2020; Izzo et al., 2020). Numerous studies have shown that these natural products can act as anti-cancer agents and have epigenetic targets in cancer cells. Compounds found cruciferous vegetables, grapes, teas, and mushrooms are now accepted to health-promoting role against the development of different types of tumors by acting as epigenetic modulators (Ferraz de Costa et al., 2020; Abe et al., 2021; Agagunduz et al., 2022).

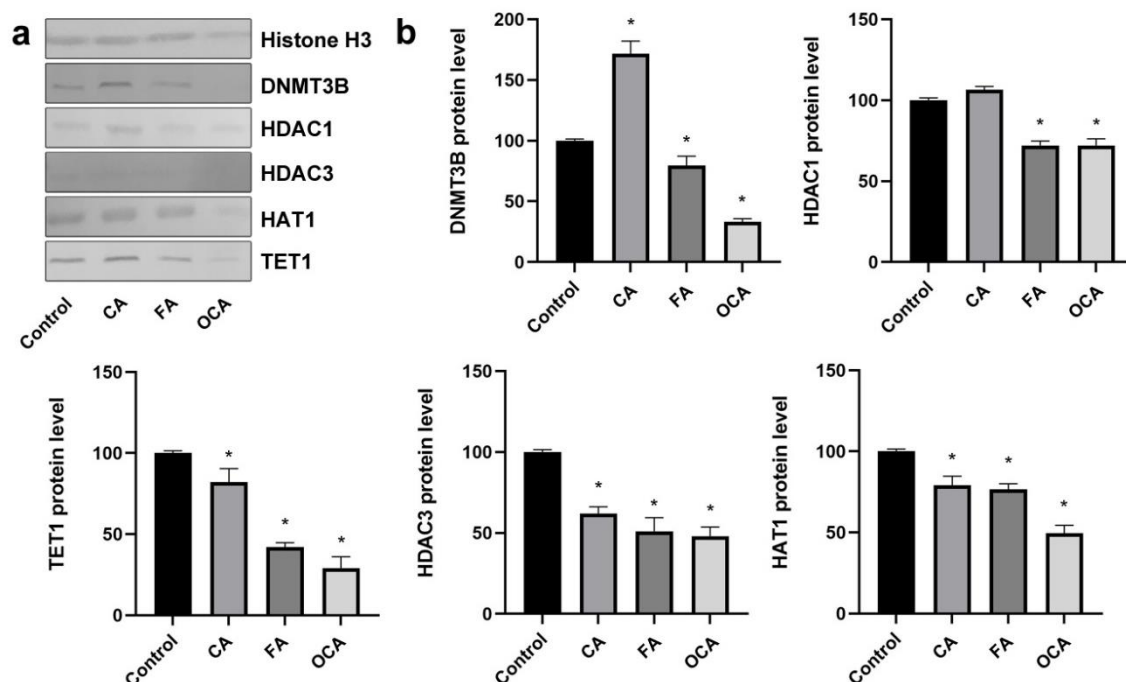


Figure 4. a. Western blot analysis of protein levels in HepG2 cells. Histone H3 was used as a loading control to normalize the data. **b.** Protein levels were analyzed with Scion Image 4.0. *P < 0.05

The chemical constituents of vegetables and edible fruits are particularly beneficial, and several reports have been published, indicating that phytochemicals may reactivate genes silenced due to abnormal methylation. In this context, it has been demonstrated that common phenolic compounds like curcumin and epigallocatechin gallate (EGCG) inhibits the DNMTs and the restore the expression of specific genes silenced in cancer cells. It was demonstrated that curcumin inhibits the methylation of the promoter region of $RAR\beta$ in lung cancer cell lines (Jiang et al., 2015). It was reported that EGCG inhibits DNMT activities and DNA methylation in head and neck squamous cell carcinoma cells (Agarwal et al., 2023). In another study, it was showed that EGCG reactivated the silenced p16INK4a and Cip1/p21 genes by downregulation of DNMT activity in human skin cancer cells (Nandakumar et al., 2011).

Western-blot, RT-qPCR and DNMT activity results obtained in this study showed that CA, FA, and OCA can modulate DNMT3B, HDAC1, TET1, HDAC3, and HAT1. As discussed previously, there were limited number of previous studies that have reported similar findings with our results (Wang et al., 2013; Du et al., 2017; Shin et al., 2019; Wang et al., 2020; Kumar et al., 2023).

Caffeic acid (3,4-dihydroxy-cinnamic acid) is an antioxidant and apoptotic polyphenol. It is nearly fully absorbed in the small intestine and is also non-toxic, even at daily doses ranging from 0.5–1 g (Olthof et al., 2001). Wang et al., (2020) reported that caffeic acid phenethyl ester (CAPE) inhibits DNA methylation *in vivo* and *in vitro*. It was reported CAPE can attenuate the HAT activity in human dermal fibroblasts (Shin et al., 2019). Additionally, computational analyses showed that CAPE binds to substrate binding site of human DNMT3A and DNMT1 (Wang et al., 2020; Kumar et al., 2023).

Ferulic acid is a common phenolic compound that has been frequently investigated. Many studies have reported the pharmacological activities of FA in addressing various diseases, such as cancers, neurodegeneration, diabetes, and cardiovascular diseases (Balasubashini et al., 2004; Sultana 2012; Zhang et al., 2016). Du et al., explored the impact of FA on the epigenetic changes in stem cells derived from human bone marrow. In this study, the treatment of FA to mesenchymal stem cells

resulted in an increased expression of β -catenin, a pivotal transcription signaling pathway crucial for stem cell differentiation (Du et al., 2017). It was reported that FA derivatives inhibits the HDAC activity *in silico* (Wang et al., 2013).

O-coumaric acid (2-hydroxycinnamic acid) is a hydroxy derivative of cinnamic acid. The presence of hydroxyl groups on the phenolic ring has been demonstrated to contribute to its antioxidant activity (Velkov et al., 2007; Hsu et al., 2009). Additionally, it exhibits antiproliferative, proapoptotic, and antitumor properties. (Sen et al., 2015; Gutiérrez Mercado et al., 2022).

Epigenetic mechanisms play a significant role in carcinogenesis. Among these mechanisms, DNA methylation stands out as a key process that influences gene expression by modifying the accessibility of transcription factors to chromatin, potentially contributing to cancer development (Song et al., 2011). DNA methylation predominantly occurs in the promoter CpG islands of the genome, facilitated by various enzymes like DNMT1 (Gailhouste et al., 2018). In HepG2 cells, there is an observed upregulation in the expression and activity of DNMTs (Wahid et al., 2017, Gailhouste et al., 2018). Ferulic acid in peanut testae can inhibit HDAC activity in colon cancer cell lines (Saenglee et al., 2016). Our results showed that treatment with CA, FA, and OCA reduced the DNMT activity and the mRNA levels of DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, TET1, HAT1, HDAC1 and HDAC3 in HepG2 cells. In addition, these phenolic acids reduced the protein expression of TET1, HDAC3, and HAT1. In accordance with our results, induced an increase in miR-124 levels by promoting DNA-demethylation, which consequently suppressed NF- κ B/p65, STAT-3, and IL-6 in HepG2 cells (Wang et al., 2015). It was also reported that CA has a strong inhibitory effect on HDAC enzymes in MCF-7 and MDA-231 breast cancer cell lines (Omene et al., 2013).

CONCLUSION

In conclusion, treatment with CA, FA, and OCA impacts in DNA methyltransferase activity and affects expression of different epigenetic enzymes like a DNMT3B, HDAC1, TET1, HDAC3, and HAT1 in HepG2 cells for the first time. These results showed that CA, FA, and OCA can reactivate the expression of specific genes silenced in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. Therefore they may have great potential as an effective liver cancer treatment. However, further studies including animal model and clinical trials are needed to validate the efficacy in the treatment and prevention of liver cancer.

ACKNOWLEDGEMENTS

Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Department provided financial support for this research (Project Number 2019FEBE018).

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Abe, S. K. & Inoue, M. (2021). Green tea and cancer and cardiometabolic diseases: a review of the current epidemiological evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*, 75(6), 865-876.
- Agagunduz, D., Sahin, T.O., Yılmaz, B., Ekenci, K.D., Duyar Ozer, S. & Capasso, R. (2022). Cruciferous Vegetables and Their Bioactive Metabolites: from Prevention to Novel Therapies of Colorectal Cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 1534083.

- Agarwal, A., Kansal, V., Farooqi, H., Prasad, R., Singh, V.K. (2023). Epigallocatechin Gallate (EGCG), an Active Phenolic Compound of Green Tea, Inhibits Tumor Growth of Head and Neck Cancer Cells by Targeting DNA Hypermethylation. *Biomedicines*, 11, 789.
- Anantharaju, P.G., Gowda, P.C., Vimalambike, M.G., & Madhunapantula, S.V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition Journal*, 15.
- Arinc, E., Arslan, S. & Adali, O. (2005). Differential effects of diabetes on CYP2E1 and CYP2B4 proteins and associated drug metabolizing enzyme activities in rabbit liver. *Archives of Toxicology*, 79(8), 427-433.
- Balasubashini, M.S., Rukkumani, R., Viswanathan, P. & Menon, V.P. (2004). Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 18, 310-314.
- Busch, C., Burkard, M., Leischner, C., Lauer, U.M., Frank, J. & Venturelli, S. (2015). Epigenetic activities of flavonoids in the prevention and treatment of cancer. *Clinical Epigenetics*, 7(1), 64.
- Cheng, J.C., Dai, F., Zhou, B., Yang, L. & Liu, Z. L. (2007). Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure-activity relationship. *Food Chemistry*, 104(1), 132-139.
- Deans, C., & Maggert, K.A. (2015). What do you mean, “epigenetic”? *Genetics*, 199(4), 887-896.
- Du, K., Li, Z., Fang, X., Cao, T. & Xu, Y. (2017). Ferulic acid promotes osteogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by inhibiting microRNA-340 to induce β -catenin expression through hypoxia. *European Journal of Cell Biology*, 96(6), 496–503.
- El-Seedi, H.R., El-Said, A.M., Khalifa, S.A., Goransson, U., Bohlin, L., Borg-Karlson, A.K., Verpoorte, R. (2012). Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(44), 10877-10895.
- Feinberg, A.P., Koldobskiy, M.A. & Göndör, A. (2016). Epigenetic modulators, modifiers and mediators in cancer aetiology and progression. *Nature Reviews Genetics*, 17(5), 284-299.
- Ferraz da Costa, D.C., Pereira Rangel, L., Quarti, J., Santos, R.A., Silva, J.L. & Fialho, E. (2020). Bioactive Compounds and Metabolites from Grapes and Red Wine in Breast Cancer Chemoprevention and Therapy. *Molecules*, 25(15), 3531.
- Gailhouse, L., Liew, L.C., Yasukawa, K., Hatada, I., Tanaka, Y., Nakagama, H. & Ochiya, T. (2018). Differentiation therapy by epigenetic reconditioning exerts antitumor effects on liver cancer cells. *Molecular Therapy*, 26, 1840-1854.
- Galicia-Moreno, M., Silva-Gomez, J.A., Lucano-Landeros, S., Santos, A., Monroy-Ramirez, H.C. & Armendariz-Borunda, J. (2021). Liver Cancer: Therapeutic Challenges and the Importance of Experimental Models. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2021, 8837811.
- Gutiérrez Mercado, Y.K., Mateos Díaz, J.C., Ojeda Hernández, D.D., López Gonzalez, F.J., Reza Zaldivar, E.E., Hernández Sapiens, M.A., Gómez Pinedo, U.A.; Estrada, R.S., Macías Carballo, M. & Canales Aguirre, A.A. (2022). Ortho-coumaric acid derivatives with therapeutic potential in a three-dimensional culture of the immortalised U-138 MG glioblastoma multiforme cell line. *Neurology Perspectives*, 2, 19-30.
- Hillyar, C., Rallis, K.S. & Varghese, J. (2020). Advances in Epigenetic Cancer Therapeutics. *Cureus*, 12(11), e11725.
- Ho, A.S., Turcan, S. & Chan, T.A. (2013). A Epigenetic therapy: use of agents targeting deacetylation and methylation in cancer management. *OncoTargets and Therapy*, 6, 223-322.

- Hsu, C.L., Wu, C.H., Huang, S.L. & Yen, G.C. (2009). Phenolic compounds rutin and o-coumaric acid ameliorate obesity induced by high-fat diet in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 425-431.
- Hu, J., Cao, S., Zhang, Z., Wang, L., Wang, D., Wu, Q. & Li, L. (2020). Effects of caffeic acid on epigenetics in the brain of rats with chronic unpredictable mild stress. *Molecular Medicine Reports*, 22(6), 5358-5368.
- Izzo, S., Valeria, N. & Saverio, B. (2020) Flavonoids as Epigenetic Modulators for Prostate Cancer Prevention. *Food Chemistry*, 12(4), 1010.
- Jiang, A., Wang, X., Shan, X., Li, Y., Wang, P., Jiang, P., Feng, Q. (2015). Curcumin Reactivates Silenced Tumor Suppressor Gene RAR β by Reducing DNA Methylation. *Phytotherapy Research*, 29(8), 1237-1245.
- Kanwal, R. & Gupta, S. (2012). Epigenetic modifications in cancer. *Clin Genet.*, 81(4), 303-311.
- Kedhari, S.M., Hussain, A., Haque, S., Raina, R. & Afroze, N. (2019). Quercetin modifies 5'CpG promoter methylation and reactivates various tumor suppressor genes by modulating epigenetic marks in human cervical cancer cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(10), 18357-18369.
- Kim, E.O., Min, K.J., Kwon, T.K., Um, B.H., Moreau, R.A., Choi, S.W. (2012). Anti-inflammatory activity of hydroxycinnamic acid derivatives isolated from corn bran in lipopolysaccharide-stimulated Raw 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1309-1316.
- Kumar, V., Dhanjal, J.K., Sari, A.N., Khurana, M., Kaul, S.C., Wadhwa, R. & Sundar, D. (2023). Effect of Withaferin-A, Withanone, and Caffeic Acid Phenethyl Ester on DNA Methyltransferases: Potential in Epigenetic Cancer Therapy. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 23.
- Kurt-Kızıldoğan, A., Akarsu, N., Otur, Ç., Kivrak, A., Aslan-Ertas, N., Arslan, S., Mutlu, D., Konus, M., Yılmaz, C., Cetin, D., Topal, T. & Şahin, N. (2022). A Novel 4H-Chromen-4-One Derivative from Marine Streptomyces ovatisporus S4702T as Potential Antibacterial and Anti-Cancer Agent. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 22(2), 362-370.
- Laemmli U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Li, W., Li, N., Tang, Y., Li, B., Liu, L., Zhang, X., Fu, H. & Duan, J.A. (2012). Biological activity evaluation and structure-activity relationships analysis of ferulic acid and caffeic acid derivatives for anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(19), 6085-6088.
- Liman, R., Kursunlu, A. N., Ozmen, M., Arslan, S., Mutlu, D., Istifli, E. S., & Acikbas, Y. (2022). Synthesis of Water Soluble Symmetric and Asymmetric Pillar [5] Arene Derivatives: Cytotoxicity, Apoptosis and Molecular Docking Studies. *Journal of Molecular Structure*, 1265, 133482.
- Mondal, P., Natesh, J., Penta, D. & Meeran, S.M. (2020). Progress and promises of epigenetic drugs and epigenetic diets in cancer prevention and therapy: A clinical update. *Seminars in Cancer Biology*, 83, 503-522.
- Mutlu, D., Secme, M. & Arslan, S. (2023). Anticancer Effects of Alpha-lipoic Acid on A172 and U373 Human Glioblastoma Cells. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(2), 851- 857.
- Nandakumar, V., Vaid, M., Katiyar, S.K. (2011). (-)-Epigallocatechin-3-gallate reactivates silenced tumor suppressor genes, Cip1/p21 and p16INK4a, by reducing DNA methylation and increasing histones acetylation in human skin cancer cells. *Carcinogenesis*, 32(4), 537-44.

- Nasr Bouzaiene, N., Kilani Jaziri, S., Kovacic, H., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K. & Luis, J. (2015). The effects of caffeic, coumaric and ferulic acids on proliferation, superoxide production, adhesion and migration of human tumor cells in vitro. *European Journal of Pharmacology*, 766, 99-105.
- Olthof, M.R., Hollman, P.C. & Katan, M.B. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of Nutrition*, 131(1), 66-71.
- Omene, C., Kalac, M., Wu, J., Marchi, E., Frenkel, K., O'Connor, O.A. (2013). Propolis and its Active Component, Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), Modulate Breast Cancer Therapeutic Targets via an Epigenetically Mediated Mechanism of Action. *Journal of Cancer Science and Therapy*, 5(10), 334-342.
- Ong, T.P., Moreno, F.S. & Ross, S.A. (2012). Targeting the epigenome with bioactive food components for cancer prevention. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 4(5), 275-292.
- Rodríguez-García, C., Sánchez-Quesada, C. & Gaforio, J.J. (2019). Dietary Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents: An Updated Review of Human Studies. *Antioxidants*, 8, 137.
- Saenglee, S., Jogloy, S., Patanothai, A., Leid, M. & Senawong, T. (2016). Cytotoxic effects of peanut phenolics possessing histone deacetylase inhibitory activity in breast and cervical cancer cell lines. *Pharmacological Reports*, 68(6), 1102-1110.
- Sahin, C., Mutlu, D., Nasirli, F., Mahmoudi, G., Zubkov, F.I., Arslan, S. & Dogan, N.M. (2021). New iridium bis-terpyridine complexes: synthesis, characterization, antibiofilm and anticancer potentials. *Biometals*, 34(3), 701-713.
- Selvakumar, P., Badgeley, A., Murphy, P., Anwar, H., Sharma, U., Lawrence, K. & Lakshmikuttyamma, A. (2020). Flavonoids and Other Polyphenols Act as Epigenetic Modifiers in Breast Cancer. *Nutrients*, 12(3), 761.
- Sen, A., Atmaca, P., Terzioglu, G. & Arslan, S. (2013). Anticarcinogenic Effect and Carcinogenic Potential of the Dietary Phenolic Acid: O-Coumaric Acid. *Natural Product Communications*, 8(9), 1269-1274.
- Sen, P., Ganguly, P. & Ganguly, N. (2018). Modulation of DNA methylation by human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins in cervical cancer. *Oncology Letters*, 15(1), 11-22.
- Shankar, E., Kanwal, R., Candamo, M. & Gupta, S. (2016). Dietary phytochemicals as epigenetic modifiers in cancer: Promise and challenges. *Seminars in Cancer Biology*, 40-41, 82-99.
- Shin, E.J., Jo, S., Choi, H.K., Choi, S., Byun, S. & Lim, T.G. (2019). Caffeic Acid Phenethyl Ester Inhibits UV-Induced MMP-1 Expression by Targeting Histone Acetyltransferases in Human Skin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 3055.
- Shukla, S., Meeran, S.M. & Katiyar, S.K. (2014). Epigenetic regulation by selected dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. *Cancer Letters*, 355(1), 9-17.
- Song, S.H., Han, S.W. & Bang, Y.J. (2011). Epigenetic-based therapies in cancer. *Drugs*, 71, 2391-2403.
- Sultana, R. (2012). Ferulic acid ethyl ester as a potential therapy in neurodegenerative disorders. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822(5), 748-752.
- Thakur, V.S., Deb, G., Babcook, M.A. & Gupta, S. (2014). Plant phytochemicals as epigenetic modulators: role in cancer chemoprevention. *The AAPS Journal*, 16(1), 151-163.
- Velkov, Z., Balabanova, E. & Tadjer, A. (2007). Radical scavenging activity prediction of o-coumaric acid thioamide. *Journal of Molecular Structure*, 1-3, 133-138.

- Venturelli, S., Berger, A., Böcker, A., Busch, C., Weiland, T., Noor, S., Leischner, C., Schleicher, S., Mayer, M., Weiss, T.S., Bischoff, S.C., Lauer, U.M. & Bitzer, M. (2013). Resveratrol as a pan-HDAC inhibitor alters the acetylation status of histone [corrected] proteins in human-derived hepatoblastoma cells. *PLoS One*, 8(8), e73097.
- Wahid, B., Ali, A., Rafique, S. & Idrees, M. (2017). New Insights into the Epigenetics of Hepatocellular Carcinoma. *BioMed Research International*, 2017, 1609575.
- Waldecker, M., Kautenburger, T., Daumann, H., Busch, C. & Schrenk, D. (2008). Inhibition of histone-deacetylase activity by short-chain fatty acids and some polyphenol metabolites formed in the colon. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(9), 587-593.
- Wang, A., Xu, Q., Sha, R., Bao, T., Xi, X. & Guo, G. (2021). MicroRNA-29a inhibits cell proliferation and arrests cell cycle by modulating p16 methylation in cervical cancer. *Oncology Letters*, 21(4), 272.
- Wang, F., Lu, W., Zhang, T., Dong, J., Gao, H., Li, P., Wang, S. & Zhang, J. (2013). Development of novel ferulic acid derivatives as potent histone deacetylase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(22), 6973-6980.
- Wang, L., Lu, M., Yi, M., Chen, L., Shen, J., Li, Z., Li, L., Yang, Y., Zhang, J. & Li, Y. (2015). Caffeic acid attenuates the autocrine IL-6 in hepatocellular carcinoma via the epigenetic silencing of the NF- κ B-IL-6-STAT-3 feedback loop. *RSC Advances*, 5, 52952–52957.
- Wang, P., Yamabe, N., Hong, C.J., Bai, H.W. & Zhu, B.T. (2020). Caffeic acid phenethyl ester, a coffee polyphenol, inhibits DNA methylation in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 887, 173464.
- Yao, H., Xu, W., Shi, X. & Zhang, Z. (2011). Dietary flavonoids as cancer prevention agents. *Journal of Environmental Science and Health*, 29(1), 1-31.
- Yu, J., Peng, Y., Wu, L.C., Xie, Z., Deng, Y. & Hughes, T. (2013). Curcumin Down-Regulates DNA Methyltransferase 1 and Plays an Anti-Leukemic Role in Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One*, 8(2), e55934.
- Zhang, X., Lin, D., Jiang, R., Li, H., Wan, J. & Li, H. (2016). Ferulic acid exerts antitumor activity and inhibits metastasis in breast cancer cells by regulating epithelial to mesenchymal transition. *Oncology Reports*, 36(1), 271-278.
- Zhang, Y. (2015). Cancer Epigenetics: Risk Assessment, Diagnosis, Treatment, and Prognosis. Detection of epigenetic aberrations in the development of hepatocellular carcinoma. *Methods in Molecular Biology*, 1238, 709–731.

Atf İçin: Altın, F., Akan, H. ve Çeter, T. (2024). Şanlıurfa'da Yayılış Gösteren Bazı *Astragalus* L. Türlerinin Palinolojik Olarak İncelenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 616-624.

To Cite: Altın, F., Akan, H. & Çeter, T. (2024). Palynological Investigation of Some *Astragalus* L. Species Distributed in Şanlıurfa. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 616-624.

Şanlıurfa'da Yayılış Gösteren Bazı *Astragalus* L. Türlerinin Palinolojik Olarak İncelenmesi

Fatma ALTIN¹, Hasan AKAN^{1*}, Talip ÇETER²

Öne Çıkanlar:

- Fabaceae familyası
- *Astragalus* cinsi
- Polen çalışmaları

Anahtar Kelimeler:

- *Astragalus*
- Palinoloji
- Şanlıurfa

ÖZET:

Bu çalışmada, Şanlıurfa ilinde yayılış gösteren Fabaceae familyasından *Astragalus* cinsine ait 5 türün (*Astragalus guttatus* Banks & Sol., *A. cretaceus* Boiss., *A. caprinus* L. subsp. *caprinus*, *A. brachystachys* DC. ve *A. ancistrocarpus* Boiss. & Hausskn.) polen morfolojisi ışık ve elektron mikroskopları ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda taksonlara ait polenlerin monad, radyal simetrik ve izopolar oldukları tespit edilmiştir. Çalışılan tüm türlerin polenleri trizonokolporat olup kolpus uzunlukları (Clg) 16,5-27,62 µm, kolpus genişlikleri (Clt) 2,15-4,16 µm, por uzunlukları (Plg) 6,69-9,32 µm, por genişlikleri (Plt) 6,69-11,44 µm arasında tespit edilmiştir. Polar eksen uzunlukları 19,23-33,66 µm arasında, ekvatorial eksen çapları 14,95-28,61 µm olarak ölçülmüştür. Ornamentasyon polar bölge ve apertür çevresinde psilat, psilat-perforat, psilat-mikroretikülata ve mikroretikülata olarak saptanırken ekvatorial bölgede mikroretikülata olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda polen şekli, polen büyüklüğü ve yüzey ornamentasyonu gibi karakterlerin türler arasında farklılık gösterdiği ve türlerin sistematik ayırımında taksonomik değere sahip olabilecek karakterler olduğu tespit edilmiştir.

Palynological Investigation of Some *Astragalus* L. Species Distributed in Şanlıurfa

Highlights:

- Fabaceae family
- *Astragalus* genus
- Pollen studies

Keywords:

- *Astragalus*
- Palynology
- Şanlıurfa

ABSTRACT:

In this study, pollen morphologies of 5 species (*Astragalus guttatus* Banks & Sol., *A. cretaceus* Boiss., *A. caprinus* L., *A. brachystachys* DC. and *A. ancistrocarpus* Boiss. & Hausskn.) belonging to the *Astragalus* genus of the family Fabaceae, which are distributed in Şanlıurfa province, were examined by light and electron microscope. As a result of the study, it was determined that the pollen of the taxa were monad, radial symmetrical and isopolar. Pollen of all studied species are trizonocolporate, colpus length (Clg) 16.5-27.62 µm, colpus width (Clt) 2.15-4.16 µm, pore length (Plg) 6.69-9.32 µm, pore width (Plt) was detected between 6.69-11.44 µm. Polar axis length was measured between 19.23-33.66 µm and equatorial axis diameter was measured as 14.95-28.61 µm. Ornamentation was determined as psilate, psilate-perforate, psilate-microreticulate, microreticulate in the polar region and aperture surround the while microreticulate in the equatorial region. As a result of the study, it was determined that the characters such as pollen shape, pollen size and surface ornamentation differ between species and these characters have taxonomic value in the systematic separation of species.

¹ Fatma ALTIN ([Orcid ID: 0009-0000-4979-0240](https://orcid.org/0009-0000-4979-0240)), Hasan AKAN ([Orcid ID: 0000-0002-3033-4349](https://orcid.org/0000-0002-3033-4349)), Harran University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Şanlıurfa, Türkiye

² Talip ÇETER ([Orcid ID: 0000-0003-3626-1758](https://orcid.org/0000-0003-3626-1758)), Kastamonu University, Faculty of Science, Department of Biology, Kastamonu, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hasan AKAN, e-mail: hakan@harran.edu.tr

This study was produced from Fatma Altın's Master's thesis.

INTRODUCTION

The genus *Astragalus* L., has about 3000 taxa (Podlech & Zarre, 2013) in the world. *Astragalus* which is the most common genus in Türkiye, is represented by 62 sections and 484 taxa in the Flora of Türkiye (Chamberlain & Matthews, 1970; Davis et al., 1988; Podlech, 1999; Duman & Akan, 2003; Aytaç et al., 2012; Karaman Erkul, 2022; Özhatay et al. 2017; 2019). 245 of the taxa are endemic and the endemism rate is 51% (Aytaç et al., 2012, Podlech & Zarre, 2013; Uzun et al., 2019; Karaman Erkul, 2022). The taxon number increase by adding new species (İlçim & Behçet, 2016; Aytaç et al., 2020; Tunçkol et al., 2020; Karaman Erkul, 2022). One of the reasons for the high rate of endemism belonging to the genus in our country is that the members of *Astragalus* grow in the high mountains of Anatolia and one of the gene centers is Türkiye. It spreads on forest, steppe and mountain slopes at altitudes of 1300-3500 meters in the Eastern Anatolia and Central Anatolia Regions of Türkiye, and at an altitude of 1300-2300 meters in the Central Aegean and Taurus Mountains. Members of this genus are frequently encountered in the steppes of mountainous regions (Akan et al., 2007).

In studies on genera belonging to Fabaceae family, it has been stated that pollens are stenopalinous in terms of some characters, and these characters do not show significant differences between different genera of the family. It has been determined that the pollen distribution unit, which is one of these characters, is commonly monad, and tetrad or polyad pollen distribution units are found only in some genera of the Mimosoideae subfamily. Isopolar and radial symmetric pollen types has been reported in different studies. It has been reported that the aperture type is also commonly trizonocolporate, rarely the trisincolporate aperture type or the tricolpate aperture type. It has been stated that features such as aperture length and width, pollen shape, apocolpium, mesocolpium, polar axis length, equatorial axis diameter and surface ornamentation show differences between species, therefore they are important characters that can be used in the systematic differentiation of species. (İşgör et al., 2012; Avcı et al., 2013; Çeter et al., 2013a; Kahraman et al., 2013; Nassiri-Semmani et al., 2014; Pınar et al., 2014; Antonio-Domingues et al., 2018; Altın et al., 2021; Bahadur et al., 2022,).

Pollens have a unique characters for each species and that's why it become important at the studies of plant taxonomy. In this study, pollens were generally determined as monad, isopolar and radial symmetrical. Pollens of the genus are commonly trizonocolporate, rarely tricolporate pollens have been reported. Pollen shape can have shapes ranging from suboblate to prolate. It has been reported that different ornamentation types such as psilate, perforate, reticulate, microreticulate and rugulate can occur in different combinations in polar region, equatorial region and aperture circles. (Simons & Chinnappa, 2004; Akan et al., 2005; Ekici et al., 2005; Dane et al., 2007; Oskouian et al., 2007; Pınar et al., 2009 ; Çeter et al., 2013b; Osman et al., 2014; Karaman Erkul et al. 2017, Atasagun et al., 2018; Metin et al., 2018; Bagheri et al., 2019; Özbek et al., 2021; Khan et al., 2022a, Khan et al., 2022b).

In this study, some members of *Astragalus*, which is distributed in Şanlıurfa and has been studied palynologically, by light microscopy and scanning electron microscopy. It is aimed to contribute to the completion of the palynological data of the *Astragalus* species distributed in Türkiye.

MATERIALS AND METHODS

Specimens Investigated

The study material consists of the species *Astragalus guttatus*, *A. cretaceus*, *A. caprinus* subsp. *caprinus*, *A. brachystachys* and *A. ancistrocarpus*, which are distributed in Şanlıurfa (Table 1). As the main source for the identification of these collected plants; Davis (1965-1985), Davis et al. (1988), Guner et al. (2000), Podlech & Zarre (2013) were used. The specimens are kept in HARRAN herbarium.

For pollen studies, taxa were collected from different regions and flower samples were also studied. Pollen morphology of taxa was examined in detail under light and scanning electron microscopy.

Table 1. Species name of *Astragalus* members and Localities

| Species name | Localities |
|------------------------------------|--|
| <i>Astragalus guttatus</i> | Şanlıurfa-Viranşehir 40. km, 22.04.2008, MNM 1339 & Akan; Şanlıurfa-Viranşehir 43. km, 07.05.2008, MNM 1403 & Akan. |
| <i>A. cretaceus</i> | Birecik; Zeytinbahçe-Abdallı, 04.05.2008, MNM 1375 Akan & Balos. |
| <i>A. caprinus subsp. caprinus</i> | Şanlıurfa-Bozova, Nergisli village, 29.04.2007, MNM 1215 & Akan; Bozova, Tektaş village, 13.05.2006, MNM 1088 & Akan; Birecik to Şanlıurfa 15 km, 03.06.2007, MNM 1319; Birecik; Çiftlik village, 04.05.2008, MNM 1374 & Akan |
| <i>A. brachystachys</i> | C6 Şanlıurfa: Birecik; Çiftlik village, 04.05.2008, MNM1374 & Akan |
| <i>A. ancistrocarpus</i> | Şanlıurfa-Mardin road, Osmanbey campus, 27.03.2007, MNM 1149 & Akan; Viranşehir road; Osmanbey campus, 06.05.2008, 500 m, steppe, MNM 1389 & Akan. |

Palynological Analyses

Pollen preparations were prepared according to the protocol specified in the Wodehouse (1935) method. Pollen grain transferred on a clean slide with the help of a sterile dissection needle, stained with safranin, and they were examined in a light microscope with Leica DM3000 digital imaging system. For each pollen character evaluated, measurements were taken from 30 different pollen and their averages were recorded.

Pollen samples were appropriately placed on aluminum staples with the help of double-sided adhesive tape, coated with gold using the Cressington Sputter Coater device, and microphotographs were taken with a Quanta FEG 250 model Scanning Electron Microscope (SEM). Pollen surface morphology and ornamentation analysis of the taxa were made using SEM microphotographs and relevant literature (Faegri ve Iversen 1975, Erdtman 1969 ve Punt vd. 2007).

RESULTS AND DISCUSSION

As a result of pollen examinations in the studied taxa, main pollen characteristics were determined as radially symmetrical, isopolar and trizonocolporate. Pollen shape is determined as prolate-spheroidal, subprolate or prolate. Polar axis measured between 19.23 – 33.6 µm, and equatorial diameter is 18.06-28.61 µm. Amb shape is circular, the diameter of the apocolpium was measured between 12.55-18.41 µm and the mesocolpium between 11.99-22.58 µm. Ornamentation was determined as psilate, psilate-perforate, psilate-microreticulate, microreticulate in the polar region aperture surround the while microreticulate in the equatorial region. The colpus is thin, long, operculate, and the operculum membrane has granulate ornamentation. Porus are laterally elongated (lalongate) with suboblate shape (Table 2, Figures 1-5).

Astragalus guttatus Banks & Sol.

Pollen grain are radially symmetrical, isopolar, trizonocolporate. Pollen shape is determined as subprolate. Polar axis measured between 19.23-22.70 µm, and equatorial diameter is 13.76-20.14 µm. Amb shape is circular, the diameter of the apocolpium was measured as 12,55 µm and the mesocolpium as 11.99 µm. Ornamentation was determined as psilate-microreticulate in the polar region aperture surround the while microreticulate in the equatorial region. The colpus is thin, long (Clg 14-18 µm, Clt 3.8 - 8.6 µm) operculate, and the operculum membrane has granulate ornamentation. Porus are laterally elongated (lalongate) with suboblate shape (Plg 3.79-8.6 µm , Plt 5.95-10.23 µm).

Table 2. Pollen characteristic features of studied *Astragalus* species

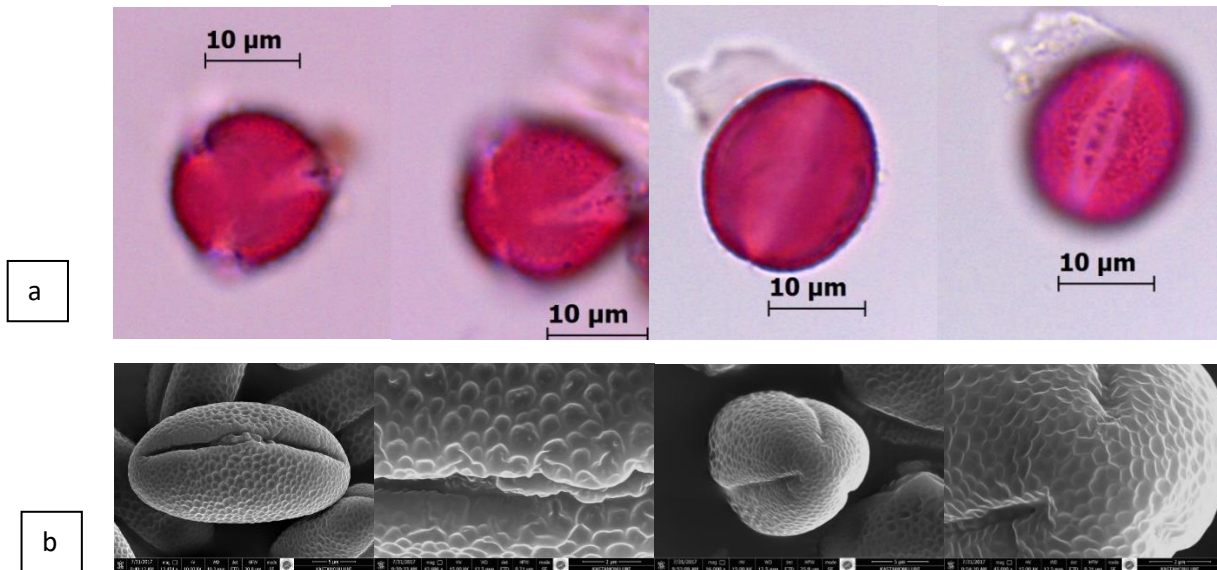
| Taxa / Takson adı | Polar axis (P) Polar eksen | | | Equatorial diameter (E) Ekvatorial çap | | | P / E ratio and pollen shape P/E oranı ve polen şekli | Aperture Apertur |
|---|-------------------------------|-------|-------|---|-------|-------|---|---------------------|
| | Min. | Ort. | Max. | Min. | Ort. | Max. | | |
| <i>A. guttatus</i> | 19.23 | 20.38 | 22.70 | 14.95 | 17.30 | 20.14 | 1,17 / Subprolate | Trizonocolporate |
| <i>A. cretaceus</i> | 28.16 | 33.6 | 38.2 | 21.5 | 26.0 | 27.58 | 1,29 / Subprolate | Trizonocolporate |
| <i>A. caprinus</i> subsp. <i>caprinus</i> | 26.75 | 28.80 | 30.4 | 23.58 | 26.26 | 28.61 | 1,09 / Prolate-sferoidal | Trizonocolporate |
| <i>A. brachystachys</i> | 28.66 | 30.22 | 31.81 | 18.06 | 19.6 | 21.38 | 1.52 / Prolate | Trizonocolporate |
| <i>A. ancistrocarpus</i> | 28.73 | 31.48 | 33.66 | 25.41 | 27.08 | 28.51 | 1.16 / Subprolate | Trizonocolporate |

*Clg: Colpus width, Plg: Pore width, * Clt: Colpus length, Plt: Pore length

Table 2. Pollen characteristic features of studied *Astragalus* species (continued)

| Taxa / Takson adı | Ornamentation Ornamentasyon | Equatorial area | Colpus (Cl) | | | | Porus (Pl) | | Ekzine İntine Ekzin intin | | Apocolpium Apokolpium | Mesocolpium Mezokolpium |
|---|--|-----------------|----------------|------|------|-------|------------|-------|------------------------------|-------|--------------------------|----------------------------|
| | | | Clg | Clt | Plg | Plt | Por | Pl | Ekzin | intin | | |
| | Polar area and aperture sourounding | | | | | | | | | | | |
| <i>A. guttatus</i> | Psilate-microreticulate | Microreticulate | 16.5 | 3.11 | 7.5 | 6.9 | 0.53 | 0,513 | 12.25 | | 11.99 | |
| <i>A. cretaceus</i> | Psilate-perforate | Microreticulate | 27.62 | 4.16 | 9.32 | 10.69 | 0.55 | 0.58 | 13.95 | | 17.06 | |
| <i>A. caprinus</i> subsp. <i>caprinus</i> | Psilate | Microreticulate | 23.89 | 2.93 | 9.11 | 10.49 | 0.59 | 0,55 | 15.5 | | 19.43 | |
| <i>A. brachystachys</i> | Psilate | Microreticulate | 22.5 | 2.15 | 6.69 | 7.3 | 0.74 | 0.69 | 12.68 | | 15.55 | |
| <i>A. ancistrocarpus</i> | Microreticulate | Microreticulate | 24.74 | 2.9 | 9.09 | 11.44 | 0.57 | 0.43 | 18.41 | | 22.58 | |

*Clg: Colpus width, Plg: Pore width, * Clt: Colpus length, Plt: Pore length

**Figure 1.** *A. guttatus*. a: Light microscope microphotograph, b: SEM microphotograph***Astragalus cretaceus* Boiss.**

Pollen grain are radially symmetrical, isopolar, trizonocolporate. Pollen shape is determined as subprolate. Polar axis measured between 28.16 – 32.20 µm, and equatorial diameter is 21.5 – 27.58 µm. Amb shape is triangular, the diameter of the apocolpium was measured as 13.95 µm and the mesocolpium as 17.06 µm. Ornamentation was determined as psilate-microreticulate in the polar region aperture surround the while microreticulate in the equatorial region. The colpus is thin, long (Clg 23.5-30.44 µm, Clt 32.5-6.6 µm) operculate, and the operculum membrane has granulate ornamentation. Porus are laterally elongated (lalongate) with suboblate shape (Plg 6.9-15.83 µm, Plt 9.5-13.08 µm).

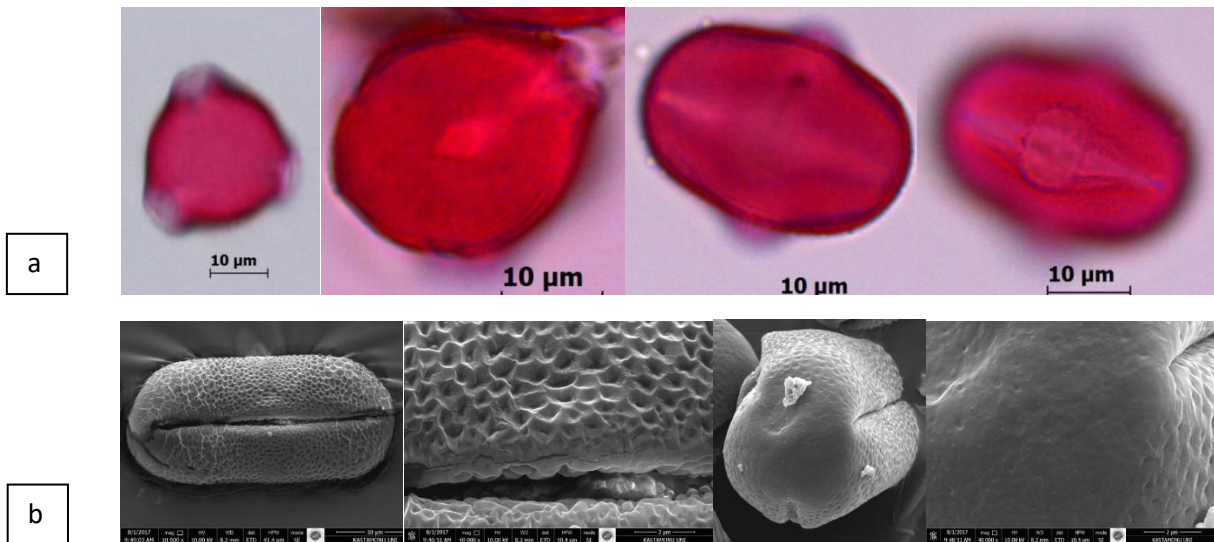


Figure 2. a: Light microscope photos of *Astragalus cretaceus*, b: SEM photos

Astragalus caprinus L. subsp. *caprinus*

Pollen grain are radially symmetrical, isopolar, trizonocolporate. Pollen shape is determined as subprolate-spheroidal. Polar axis measured between 26.75-30.33 μm , and equatorial diameter is 23.58-28.61 μm . Amb shape is semi-triangular, the diameter of the apocolpium was measured as 15.22 μm and the mesocolpium as 19.49 μm . Ornamentation was determined as psilate in the polar region aperture surround the while microreticulate in the equatorial region. The colpus is thin, long (Clg 20.77-25.66 μm , Clt 1.83-3.86 μm) operculate, and the operculum membrane has granulate ornamentation. Porus are laterally elongated (lalongate) with suboblate shape (Plg 7.45-10.8 μm , Plt 8.66-13.26 μm).

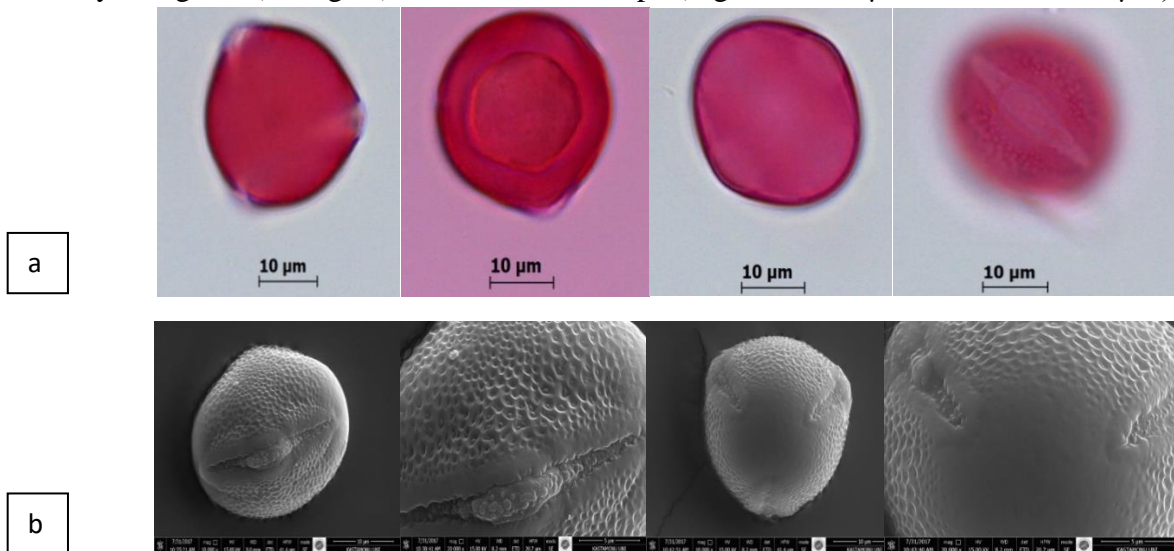


Figure 3. a. *Astragalus caprinus* L. subsp. *caprinus* light microscope photographs b. SEM photos

Astragalus brachystachys DC.

Pollen grain are radially symmetrical, isopolar, trizonocolporate. Pollen shape is determined as prolate. Polar axis measured between 29.45-31.55 μm , and equatorial diameter is 18.18-21.38 μm . Amb shape is circular, the diameter of the apocolpium was measured as 12.68 μm and the mesocolpium as 15.5 μm . Ornamentation was determined as psilate in the polar region aperture surround the while microreticulate in the equatorial region. The colpus is thin, long (Clg 20.48-25.04 μm , Clt 1.1-2.6 μm)

operculate, and the operculum membrane has granulate ornamentation. Porus are laterally elongated (along) with oblate-spheroidal shape (Plg 7.45-10.8 μm , Plt 8.66-13.26 μm).

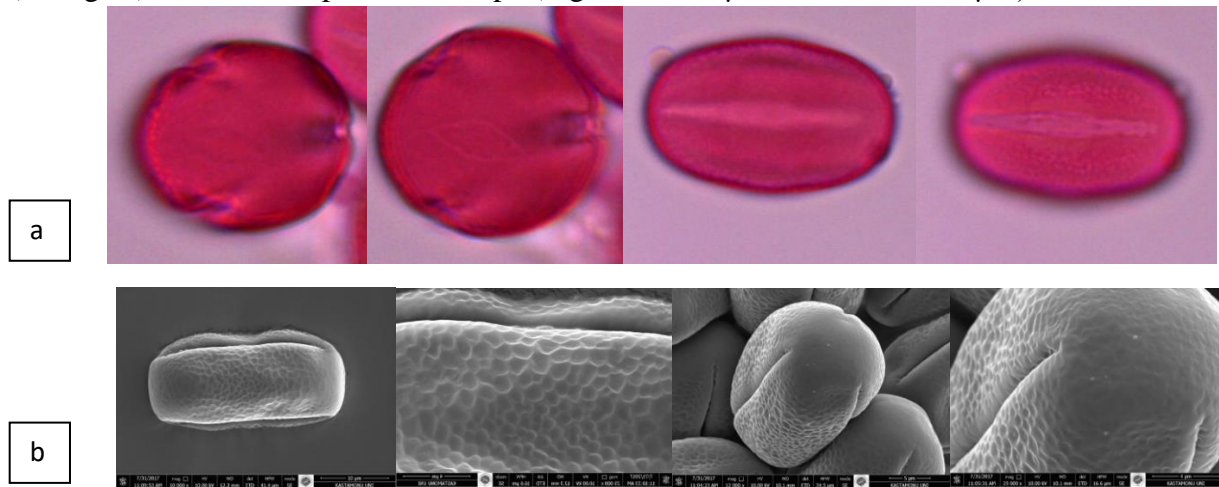


Figure 4: a. Light microscope photographs of *Astragalus brachystachys* species, b. SEM photos

Astragalus ancistrocarpus Boiss. & Hausskn.

Pollen grain are radially symmetrical, isopolar, trizonocolporate. Pollen shape is determined as subprolate. Polar axis measured between 28.73-33.66 μm , and equatorial diameter is 25.41-28.51 μm . Amb shape is circular, the diameter of the apocolpium was measured as 18.41 μm and the mesocolpium as 22.58 μm . Ornamentation was determined as microreticulate in both the polar region aperture surround and equatorial region. The colpus is thin, long (Clg 23.33-25.66 μm , Clt 2.2-4.3 μm) operculate, and the operculum membrane has granulate ornamentation. Porus are laterally elongated (along) with suboblate shape (Plg 6.5-17.25 μm , Plt 8.83-15.38 μm).

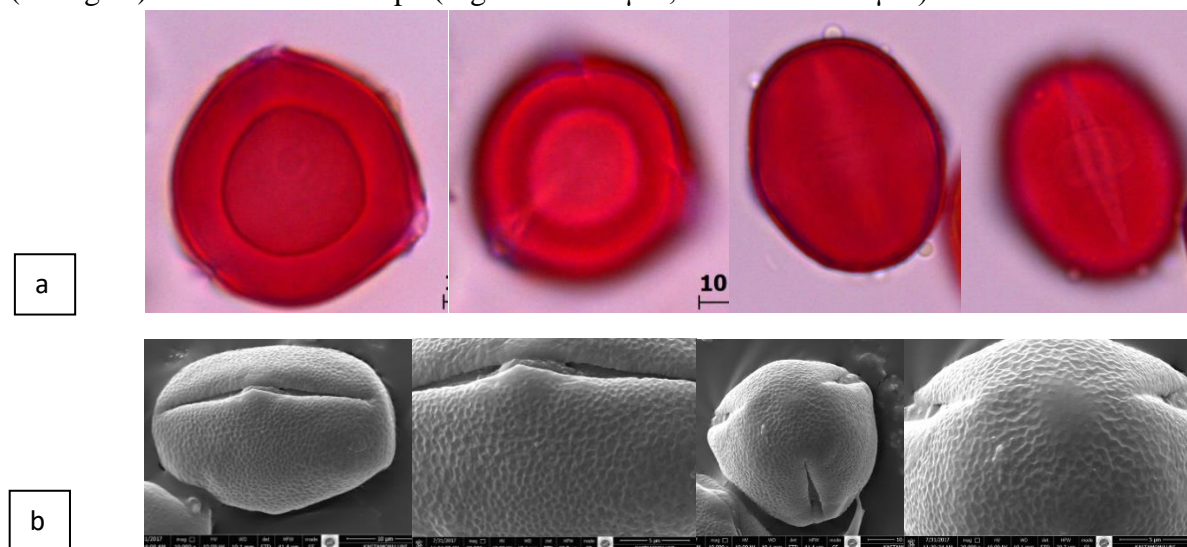


Figure 5: a. Light microscope photographs of *Astragalus ancistrocarpus* species, b. SEM photos

With this study, some members of *Astragalus* were investigated palynologically. Pollens of all studied *Astragalus* taxa were determined as radial symmetric, isopolar and trizonocolporate. Studies on both different *Astragalus* taxa (Perveen & Qaisar, 1998; Akan et al., 2005; Pinar et al., 2009a; Çeter et al., 2013b; Al-Ghamadi et al., 2013; Hayrapetyan & Elbakyan, 2017; Bagheri et al., 2019) and in studies on different genera of the Fabaceae family (Avcı et al., 2013; Çeter et al., 2013a; İşgör et al., 2012; Pinar et al., 2013; Kahraman et al., 2012; Binzat et al., 2014) in terms of polarity and symmetry of pollen reveals that they mostly exhibit similar characteristics. Hayrapetyan & Elbakyan (2017) determined the

aperture type as trizonocolporate for the different *Astragalus* species they studied. Likewise, Akan et al. (2005) in species belonging to the Hololeuce section and Pınar et al. (2009a) determined the trizonocolporate aperture type for the species belonging to the Onobrychoidei section. According to Çeter et al. (2013b) in addition to trizonocolporate ornamentation, rarely trisyncolporate aperture type was determined in species belonging to the Hololeuce section.

Prolate-spheroidal (*A. caprinus* subsp. *caprinus*), subprolate (*A. guttatus*, *A. cretaceus*, *A. ancistrocarpus*) and Prolate (*A. brachystachys*) pollen forms were determined in the pollen of the studied taxa. Similarly, subprolate, prolate and prolate-spheroidal pollen forms were determined in some *Astragalus* species belonging to “Flora of Pakistan” (Perveen & Qaisar, 1998) and taxa belonging to Onobrychoidei (Pınar et al., 2009) and Alopecuroidei (Akan et al., 2005) sections in “Flora of Turkey”. Al-Ghamadi et al. (2013) determined a perprolate pollen shape in addition to the above-mentioned pollen shapes in the pollen of 13 *Astragalus* species distributed in the “Flora of Saudi Arabia”.

Ornamentation in *Astragalus* taxa is microreticulate in the equatorial region, microreticulate (*A. ancistrocarpus*), psilate-microreticulate (*A. guttatus*), psilate (*A. caprinus* subsp. *caprinus*, *A. brachystachys*), Psilate-perforate (*A. cretaceus*) around the polar region and aperture.) ornamentation types were determined. Akan et al. (2005) Microreticulate ornamentation in the *Alopecuroidei* section of the genus *Astragalus*. Pınar et al. (2009a) determined microreticulate, reticulate and rugulate ornamentation in species belonging to the Onobrychoidei section. Bagheri et al. (2019) determined microreticulate ornamentation in 22 species belonging to the Hymenostegis section. Oskouian et al. (2007) determined mostly reticulate and rarely verrucate ornamentation in 37 species belonging to Malacothrix section. Al-Ghamadi et al. (2014) identified 6 different ornamentation types as reticulate, reticulate-psilate, reticulate-scabrate, microreticulate-perforate, microreticulate-psilate, and perforate-psilate in 13 different *Astragalus* species. According to Çeter et al. (2013b) Reticulate and perforate in the polar region in species belonging to the Hololeuce section, perforate in the equatorial region, reticulate, microreticulate, perforate-granulate, microreticulate-perforate, microrugulate-perforate, microrugulate-microreticulate, granulate-perforate, microreticulate- granulate

CONCLUSION

As results of many studies on the *Astragalus* genus, no differences were detected between pollen in terms of aperture type, polarity and symmetry, and the pollen of all studied species was found to be trizonocolporate, isopolar and radially symmetrical. However, the polar axis, equatorial diameters, pollen shapes, colpus and pore measurements and ornamentation types of the studied species showed significant differences. Pollen shape was determined as prolate-spheroidal, subprolate and prolate. Ornamentation was determined as psilate, psilate-perforate, psilate-microreticulate, microreticulate in the polar region and aperture surround the while microreticulate in the equatorial region.

It has been determined that pollen morphological features such as polar axis, equatorial diameter, pollen shape and pollen surface ornamentations, differ between species and can be used in the differentiation of species.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank to Harran University for financial support (Project no 17074).

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Akan, H., Tatlıdil, S. & Bıçakçı A. (2005). Pollen morphology of *Astragalus* L. Section Alopecuroidei DC. (Fabaceae) in Turkey. *International Journal of Botany* 1(1), 50-58.
- Akan, H., Firat, M. & Ekici, M. (2007). *Astragalus bahcesarayensis* (Leguminosae-Papilionodeae), a new species of section Alopecuroideio C. From Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society* 156, 439-444.
- Al-Ghamadi, F., Osman, A.K.E & Guetat, A. (2013). Contributions to the Pollen Morphology of Genus *Astragalus* L. (Fabaceae) and its Taxonomic Implications. *Asian Journal of Plant Sciences* 12, 176-189. doi:10.3923/ajps.2013.176.189.
- Altın F., Çeter T., Çeçen C., & Akan H. (2021). Morphological and Palynological Investigations on Some Taxa of *Medicago* L. (Fabaceae) Genus Distributing in Şanlıurfa. *International Journal of Current Natural Science and Advance Phytochemistry* 1 (2), 1-7. <https://zenodo.org/record/5809434#.Ycyt9GjP02w>.
- Antonio-Domingues, H., Corrêa, A. M. D. S., Queiroz, R. T. D., & Bitar, N. A. B. (2018). Pollen morphology of some Fabaceae species from Patos de Minas, Minas Gerais State, Brazil. *Hoehnea*, 45, 103-114. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-54/2017>.
- Atasagun, B., Aksoy, A., & Martin, E. (2018). Morphological, Anatomical, Palynological, Karyological and Ecological Remarks of *Astragalus argaeus* (Fabaceae) Endemic to Turkey. *Phytotaxa* 379 (1), 118-130. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.379.1.10>.
- Avcı, S., Sancak, C., Can, A., Acar, A., & Pınar N.M (2013). Pollen Morphology of the Genus *Onobrychis* (Fabaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 37(4), 669-681. doi:10.3906/bot-1207-52.
- Aytaç, Z. & Ekici, M. (2012). *Astragalus* sp. In: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç MT (editorler). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, pp. 427-456.
- Bagheri, A., Roofigar, A.A., Abbasi, S., Maassoumi, A.A., Rutten, T. & Blatner, F.R., (2019). Pollen morphology of *Astragalus* section *Hymenostegis* (Fabaceae) and Evaluation of Its Systematic Implications. *Grana* 58, 328-336. <https://doi.org/10.1080/00173134.2019.1621931>.
- Bahadur, S., Taj, S., Long, W. & Hanif, U. (2022). Pollen Morphological Peculiarities of Selected Mimosoideae Taxa of Hainan Island and Their Taxonomic Relevance. *Agronomy* 12(5), 1122. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051122>.
- Chamberlain, D. F. & Mathews, M.A. (1970). *Astragalus* – In: Davis P. H. (ed.). *Flora of Turkey and the east egean Islands, vol 3*. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Çeter, T., Karaman, S., Aytaç, Z. & Başer, B (2013a). Pollen morphology of *Oxytropis* DC. (Fabaceae) genus in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany* 42(1), 167-174.
- Çeter, T., Ekici, M., Pınar, N.M & Özbek, F. (2013b). Pollen Morphology of *Astragalus* L. Section *Hololeuce Bunge* (Fabaceae) in Turkey. *Acta Botanica Gallica* 160(1), 43-52. <https://doi.org/10.1080/12538078.2013.791641>.
- Dane, F., Aksoy, Ö. D., & Yılmaz, G. (2007). Karyological and Palynological Studies on *Astragalus hamosus* and *A. glycyphyllos* in Turkey. *Phytologia Balcanica* 13(3), 387-391.
- Davis, P.H. & Milli, R.R. (1988). *Türkiye florası ve doğu Ege adaları* (Ek I). Edinburgh University Press, Edinburgh, 166-169.
- Duman, H., & Akan, H. (2003). New Species of *Astragalus* (sect. Alopecuroidei: Leguminosae) From Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society* 143(2), 201-205.
- Erdman, G. (1969). *Handbook of palynology. Morphology, taxonomy and ecology*. Copenhagen: Munksgaard.
- Fægri, K., & Iversen, J. (1975). *Textbook of pollen analysis*. Munksgaard, Copenhagen, 295 pp.
- İşgör, F.G., Alan, Ş., Aşçı, B., Çeter, T., Duran, A. & Pınar, N.M. (2012). Pollen Morphology of the Genus *Genista* L. (Fabaceae) in Turkey. *Mellifera* 12(23);12-23.
- Kahraman, A., Binzat, O.K. & Doğan, M. (2013). Pollen Morphology of Some Taxa of *Vicia* L. subgenus *Vicia* (Fabaceae) From Turkey. *Plant Systematics and Evolution* 299(9), 1749-1760.

- Karaman Erkul, S., Çeter, T., & Aytaç, Z. (2017). Türkiye'nin *Astragalus* L. (Leguminosae) Cinsine Ait Poterion Bunge Seksiyonunun Revizyonu. *Ot Sistematik Botanik Dergisi* 24(1), 1-20.
- Karaman Erkul, S., Duman, H., & Ateş, M. A. (2022). *Astragalus aksutdagensis* (Fabaceae), A New Species from Turkey. *Nordic Journal of Botany* 3, 1-12. <https://doi.org/10.1111/njb.03237>.
- Khan, A., Ahmad, M., Zafar, M., & Shah, S.A. (2022a). Systematic significance of pollen morphology in rare endemic taxa of *Astragalus* L. (Fabaceae). *Phytotaxa* 561 (3), 267-290. DOI: 10.11646/PHYTOTAXA.561.3.4.
- Khan, A., Ahmad, M., Zafar, S., Abbas, Q., Arfan, M., Zafar, M., Sultana, S., Ullah, SA., Khan, S., Akhtar, A., Kilic, O. & Ozdemir, FA. (2022b). Light and scanning electron microscopic observation of palynological characteristics in spineless *Astragalus* L. (Fabaceae) and Its Taxonomic Significance. *Microscopy Research and Technique* 85(7), 2409-2427. DOI: 10.1002/jemt.
- Metin, H., Çeter, T., Karaman Erkul, S (2018). Micromorphological characters of pollen, leaflet and seed of *Astragalus victoriae* and *Astragalus melanophrurius* endemic to Turkey. *Mellifera* 18 (1), 22-29.
- Nassiri Semnani, S., Majd, A., Ghassempour, H., Lesani, SN. & Javar, N. (2014). Pollen morphology of the genera *Onobrychis* (Hedysareae, Fabaceae) in Iran. *Journal of Applied Biological Sciences* 8(3), 46-51.
- Oskouian, R., Kazempour Osaloo, S., Maasoumi, A.A. (2007). Pollen morphology of *Astragalus* section *Malacothrix* and its allies (Fabaceae) in Iran. *Journal of Science* 32, 177-181.
- Osman, A., Al-Ghamdi, F., & Guetat, A. (2014). Pollen Morphology Of Some Species of Genus *Astragalus* L.(Fabaceae) in Northern Region of Saudi Arabia. *Life Science Journal* 11(11), 1006-1019.
- Özbek, F., Ekici, M., Büyükkartal, H.N. & Pınar, N.M. (2021). Anatomy, Palynology and Micromorphology of the Genus *Astragalus* L.(Fabaceae) Section Uliginosi Gray in Turkey. *Journal of the Institute of Science and Technology* 11(4), 2525-2536.
- Özhatay, Ö., Kültür, Ş. & Gürdal, B. (2017). Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey VIII. *Istanbul Journal of Pharmacy* 47(1), 30-44. doi: 10.5152/IstanbulJPharm.2017.006.
- Özhatay, Ö., Kültür, Ş. & Gürdal, B (2019). Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey IX. *Istanbul Journal of Pharmacy* 49 (2), 105-120. doi: 10.26650/IstanbulJPharm.2019.19037.
- Pınar, N.M., Akan, H., Çeter, T., Aytaç, Z., Ekici, M., Acar, A., & Akdoğan, S. (2014). Comparative pollen morphology of annual *Trigonella* L. (Fabaceae) in Turkey. *Plant Systematics and Evolution* 300(4); 689-708.
- Pınar, M., Ekici, M., Aytac, Z., Akan, H., Ceter, T., & Alan, Ş. (2009). Pollen morphology of *Astragalus* L. Sect. *Onobrychoidei* Dc.(Fabaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 33(4), 291-303.
- Podlech, D. & Zarre, S. (2013). *A taxonomic revision of the genus Astragalus L. (Leguminosae) in the Old World, Vols. 1-3*. Wien, Naturhistorisches Museum, pp. 2439.
- Podlech, D. (1999). Papilionaceae III, *Astragalus* I. In: Rechinger KH (ed.) *Flora Iranica*, Vol. 174. Graz, Austria: Akademische Druck-u. Verlagsanstalt.
- Podlech, D., Zarre, S., [with collaboration of Ekici, M., Maassoumi, A.A. and Sytin, A.] (2013). *A taxonomic revision of thegenus Astragalus L. (Leguminosae) in the Old World. Vols. 1-3*. Natur historisches Museum Wien, 2439 pp.
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology* 143(1-2), 1-81.
- Simons, E.P., & Chinnappa, C.C (2004). *Pollen Morphology and Taxonomic Status of North American Astragalus and Oxytropis*(Papilionoideae: Fabaceae). *Beitrag zur Biologie der Pflanzen* 73, 307- 319.
- Wodehouse, R. P. (1935). *Pollen grains: their structure, identification and significance in science and medicine*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Wojciechowski, M.F., Lavin, M. & Sanderson, M.J. (2004). A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 91(11),1846-2.

Atf İçin: Karaboduk, H., Adiguzel, Ç., Apaydin, F. G., Kalender, S., Uzunhisarcıklı, M. ve Kelender, Y. (2024). Fenamifos'un Sıçan Kan ve Dalak Dokusunda Sebep Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Naringenin'in Koruyucu Rolü. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 625-635.

To Cite: Karaboduk, H., Adiguzel, Ç., Apaydin, F. G., Kalender, S., Uzunhisarcıklı, M. & Kelender, Y. (2024). Protective Role of Naringenin on Oxidative Stress Caused by Fenamiphos in Rat Blood and Spleen Tissue. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 625-635.

Fenamifos'un Sıçan Kan ve Dalak Dokusunda Sebep Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Naringenin'in Koruyucu Rolü

Hatice KARABODUK^{1*}, Çağlar ADIGUZEL¹, Fatma GÖKÇE APAYDIN¹, Suna KALENDER²,
Meltem UZUNHİSARCIKLI³, Yusuf KALENDER¹

Öne Çıkanlar:

- Fenamifos kan ve dalak dokusunda oksidatif stres meydana getirmiştir
- Fenamifos antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya yol açmıştır
- Naringenin kan ve dalak dokularında oksidatif stresi azaltan etkileri tespit edilmiştir

Anahtar Kelimeler:

- Kan
- Dalak
- Fenamifos
- Naringenin
- Oksidatif stres

ÖZET:

Organofosfatlı bir insektisit olan fenamifos, tarım alanlarında sıklıkla kullanılmakta, çevre ve halk sağlığı açısından çeşitli sorunlar meydana getirmektedir. Naringenin, antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan ve antiproliferatif aktivitelere sahip bir flavonondur. Bu çalışmanın amacı sıçanların kan ve dalak dokusunda fenamifos kaynaklı oksidatif stres üzerine naringenin koruyucu rolünü araştırmaktır. Bu çalışmada sıçanlar her grupta 6 adet olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. 1. grup: kontrol grubu, 2. grup: fenamifos (0.76 mg/kg v.a.) muameleli grup, 3. grup: naringenin (50 mg/kg v.a.) muameleli grup 4. grup: fenamifos (0.76 mg/kg v.a.) ve naringenin (50 mg/kg v.a.) muameleli grup. Maddeler deney hayvanlarına 28 gün boyunca gavaj yolu ile verilmiştir. Fenamifos muameleli grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA, IL-17 ve 8-OHdG düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken ($p < 0.05$), SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). Naringenin muameleli grup, fenamifos muameleli grup ile karşılaştırıldığında, parametrelerde anlamlı bir iyileşme gözlenmiştir. Bu çalışmada fenamifosun sıçanların kan ve dalak dokusunda oluşturduğu toksisiteye karşı, antioksidan özellikleri güçlü naringenin uygulamasının oksidatif hasarı önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir.

Protective Role of Naringenin on Oxidative Stress Caused by Fenamiphos in Rat Blood and Spleen Tissue

Highlights:

- Fenamiphos caused oxidative stress in the blood and spleen tissues
- Fenamiphos caused a decrease in antioxidant enzyme activities in the blood and spleen tissues
- Naringenin's effects on reducing oxidative stress in blood and spleen tissues have been determined

Keywords:

- Blood
- Spleen
- Fenamiphos
- Naringenin
- Oxidative stress

ABSTRACT:

Fenamiphos, an organophosphate insecticide, is frequently used in agricultural areas and causes various problems in terms of environment and public health. Naringenin is a flavonone with anticancer, anti-inflammatory, antioxidant and antiproliferative activities. The aim of this study is to investigate the protective role of naringenin on fenamiphos-induced oxidative stress in the blood and spleen tissue of rats. In this study, rats were divided into 4 groups, with 6 in each group. 1st group: control group, 2nd group: fenamiphos (0.76 mg/kg b.w.) treated group, 3rd group: naringenin (50 mg/kg b.w.) treated group 4th group: fenamiphos (0.76 mg/kg b.w.) v.a.) plus naringenin (50 mg/kg b.a.) treated group. The substances were given to experimental animals via gavage for 28 days. When the fenamiphos treated group was compared with the control group, a statistically significant increase was observed in MDA, IL-17 and 8-OHdG levels compared to the control group ($p < 0.05$), while a statistically significant decrease was observed in SOD, CAT, GPx and GST enzyme activities ($p < 0.05$). When the naringenin-treated group was compared with the fenamiphos-treated group, a significant improvement in the parameters was observed. In this study, it was observed that the administration of naringenin, which has strong antioxidant properties, significantly reduced oxidative damage against the toxicity caused by fenamiphos in the blood and spleen tissue of rats.

¹Hatice KARABODUK (Orcid ID: 0000-0001-6752-7219), Çağlar ADIGUZEL (Orcid ID: 0000-0003-3716-0051), Fatma Gökçe APAYDIN (Orcid ID: 0000-0002-2771-7488), Yusuf KALENDER (Orcid ID: 0000-0001-5457-0517), Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

²Suna KALENDER (Orcid ID: 0000-0002-9654-1287), Gazi Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Eğitimi, Ankara, Türkiye

³Meltem UZUNHİSARCIKLI (Orcid ID: 0000-0003-1265-8347), Gazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Ankara, Türkiye.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hatice KARABODUK, e-mail: haticearikan@gazi.edu.tr

Etik Kurul Onayı / Ethics Committee Approval: Bu makalede yer alan hayvan deneyi için "Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu"nun Tarih: 14.01.2022 Toplantı No 2022-1, G.Ü.ET-22.011 kod numaralı kararı ile Etik Kurul Onayı alınmıştır

GİRİŞ

Organofosforlu insektisitler, pestisitlerin geniş bir sınıfını oluşturmakla beraber ev, tarım ve kentsel çevredeki zararlıların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır (Baş ve Kalender, 2011). Organofosfatlı insektisitlerin etki mekanizmalarının çoğu nörolojik sistem üzerine olup, hedef enzimleri asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonuna dayanmaktadır (Demir ve ark., 2011). Asetilkolinesterazın inaktivasyonu, merkezi ve periferik sinir sistemindeki sinaptik noktalarda asetilkolinin birikmesine yol açar ve bu durum da kolinerjik reseptörlerde aşırı uyarılma meydana getirir (Thiermann ve ark., 1997). En çok kullanılan ticari organofosfatlı insektisitlerden biri de fenamifosdur (FNP). FNP (O-etil-O-(3-metil-4-metiltiyofenil)- izopropilamido fosfat) renksiz bir kristaldir ve katı bir organofosforlu insektisittir. FNP ve metabolitleri yüksek suda çözünürlükleri sebebi ile yeraltı sularına kolaylıkla karışabilmektedirler (Caceres ve ark., 2010). Asetikolinesteraz inhibitörü olan fenamifos, domates, zencefil, turp, ananas, muz, pamuk gibi birçok ürünün zararlısı olan yeraltı nematodlarını kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu tarz insektisitlerin biyoaktivitesi, çözünürlüğü ve toksisitesi hakkında detaylı araştırmalar sınırlı kalmıştır (Wang ve ark., 2004). Uzun süreli FNP maruziyetlerinde suda yaşayan organizmalarda birikim meydana geldiği gözlenmiştir. FNP maruziyeti birçok yolla olabilirken genellikle dermal, solunum ve kontamine olmuş gıda ve suların içilmesi ile gerçekleşmektedir (Qader ve ark., 2019).

Normal koşullar altında reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan enzim aktiviteleri arasında bir denge vardır. Bu denge normalin dışına çıktığında veya ROS lehine değiştiğinde vücutta oksidatif stres oluşur. Metabolik döngülerde aşırı ROS üretimi hücrelerin membran lipitleri de dahil olmak üzere biyomoleküllerde ciddi hasara neden olduğu gösterilmiştir (Adiguzel ve ark., 2023). Oksidatif stres kaynaklı hasarın meydana getirdiği etkileri azaltmak için hücrelerin çeşitli savunma yolları vardır. Hücreler enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar (flavonoidler gibi) aracılığıyla hasarı onarabilir ve oksidanların zararını hafifletebilir (Baş ve Kalender, 2011).

Flavonoidler, hücrelerdeki ROS'u azaltan bitki kaynaklı fenolik bileşikler olup, çiçeklerdeki sarı, turuncu ve kırmızı tonları gibi bitki kısımlarının farklı renklerinden sorumlu olan bitki kaynaklı fitokimyasallardır. Yenilebilir bitkilerde flavonoller, flavonlar, flavanoller, flavanonoller, flavanonlar ve izoflavonlar gibi 4.000'den fazla flavonoid rapor edilmiştir (Rashmi ve ark., 2018; Zaidun ve ark., 2018).

Naringenin esas olarak meyve ve sebzelerde bulunan flavanonlara ait bir bileşiktir. İnsan sağlığı üzerinde önemli biyolojik etkiye sahip olan naringenin farmakolojik olarak antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan ve antiproliferatif aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir (Ameer ve ark., 1996; Kiran ve ark., 2017). Naringenin hakkında yapılan geniş çaplı araştırmalarda anti-oksidatif özelliğinin, oksidatif stres ile ilişkili hastalıklarda yararlı etki gösterdiği ifade edilmiştir (Wilcox ve ark., 1999; Zaidun ve ark., 2018).

Bu çalışmada, FNP insektisitinin sıçanların kan ve dalak dokusunda neden olduğu oksidatif hasara karşı, güçlü antioksidan özellikleri olan naringenin koruyucu rolü araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

Fenamifos, HPC STANDARDS'dan, Naringenin, ABCR firmasından temin edilmiştir. Her iki solüsyon distile suda çözülerek hazırlanmıştır (Romeh ve ark., 2017; Wang ve ark., 2021).

Hayvanlar

Bu deney için Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezinden ortalama ağırlığı 200-250 gr olan 24 adet albino Wistar sıçan temin edildi. Özel kafesler

içerisine alınan sıçanlar uygun sıcaklıkta (18-22°C) 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüden oluşan standart laboratuvar koşullarında tutuldu ve standart laboratuvar diyeti ve su ile beslendiler. Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (Protokol no: G.Ü.ET-22.011) onay alınmıştır.

Hayvanlara Uygulama Planı

Hayvanlar, her deney grubunda 6 sıçandan oluşan dört gruba ayrıldı (Tablo 1) ve maddeler 28 gün boyunca günde bir kez gavaj yoluyla uygulama yapıldı.

Tablo 1. Deney hayvanı grupları ve uygulama planı

| Gruplar | Uygulamalar |
|----------------------------|---|
| Kontrol Grubu | 1 ml/kg vücut ağırlığı (v.a.) distile su |
| Naringenin (NAR) Grubu | 50 mg/kg v.a. (Wang ve ark., 2021) |
| Fenamifos (FNP) Grubu | 0.76 mg/kg v.a. (1/25 LD ₅₀) (LD ₅₀ :19 mg/kg vücut ağırlığı; Singh ve ark., 2006) |
| Naringenin+Fenamifos Grubu | Naringenin (50 mg/kg v.a.) ve Fenamifos (0.76 mg/kg v.a.) |

Deneylerin sonunda tüm hayvanlar ketamin+ksilazin kombinasyonu (intramuskular yoldan 45mg/kg v.a ketamin; 5mg/kg v.a ksilazin) anestezisi altında sakrifiye edildikten sonra disekte edildi. Analizler için sıçanların kalplerinden alınan kan örneklerinden serum elde edildi ve çalışma için dalak dokuları alındı.

Kanda Oksidatif Stres Biyobelirteçlerinin Tespiti

Sıçanların kan örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), (Kat No: Otto3047), glutatyon peroksidaz (GPx), (Kat No: Otto2085) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri, (E-BC-K031-S) ticari kiti kullanılarak kolorimetrik yöntemlerle tespit edildi. Glutatyon s-transferaz (GST) enzim aktivitesi ise BT-LAB (Kat No: E0513Ra) ticari kiti kullanılarak ELISA yöntemi ile belirlendi. Malondialdehit (MDA) (Kat No: Otto1001) seviyeleri, Otto Scientific ticari kitleri kullanılarak kolorimetrik yöntemle tayin edildi.

Dalak Dokusunda Oksidatif Stres Biyobelirteçlerinin Tespiti

Dalak dokuları sodyum fosfat tamponunda yıkanarak homojenize edildi. Homejonize edilen dokular için santrifüj işlemi +4°C'de 15 dakika olarak devam edildi. Dalak dokusunun antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri spektrofotometrik olarak tespit edildi. Toplam protein konsantrasyonu Lowry ve arkadaşları (1951) tarafından belirlenen metoda göre yapıldı.

Lipid peroksidasyon belirteci olan MDA düzeyi, Ohkawa ve arkadaşları (1979) tarafından geliştirilen tiyobarbitürik asit oluşumunu esas alan prosedür ile dalak dokusunda 532 nm'de analiz edildi ve nmol/mg protein olarak belirtildi. SOD aktivitesi Marklund ve Marklund (1974) prosedürü ile 440 nm'de ölçüldü ve U/mg protein olarak ifade edildi. CAT aktivitesi, 240 nm'de Aebi (1984) metodu kullanılarak belirlendi ve nmol/mg protein olarak tespit edildi. Glutatyon peroksidaz, Paglia ve Valentine (1987) yöntemiyle 340 nm'de test edildi ve aktivitesi nmol/mg protein olarak ifade edildi. Glutatyon-S-transferaz enzim aktivitesi Habig ve ark.'nın (1974) yöntemiyle 340 nm'de test edildi ve değeri µmol/mg protein olarak belirtildi.

Oksidatif DNA Hasarının Analizi

Serum örneklerinde ve dalak dokusundaki 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyi Elabscience (Kat No: E-EL-0028) ticari kiti kullanılarak ELISA yöntemiyle belirlendi.

Kanda İnterlökin -17 (IL-17) Seviyesinin Analizi

Elde edilen serum örneklerinden İnterlökin 17 seviyesi sıçan İnterlökin-17 BT LAB (Kat No: E0115Ra) ticari kiti kullanılarak ELISA yöntemiyle belirlendi.

İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizlerde SPSS programı versiyon 22 ve GraphPad prism versiyon 8 kullanıldı. Veriler ANOVA ve Tukey testleri kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen veriler \pm SD olarak ifade edildi. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

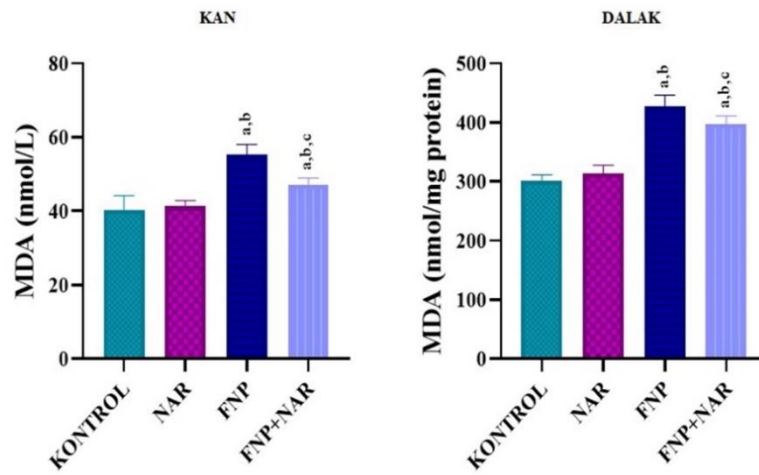
BULGULAR VE TARTIŞMA

Oksidatif Stres Biyobelirteçlerinin Değerlendirilmesi

Deneyler boyunca sıçanlarda mortalite gözlenmedi. Kan ve dalak dokusunda, kontrol ve naringenin uygulanan gruplar arasında MDA düzeyleri ile SOD, GST, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 1).

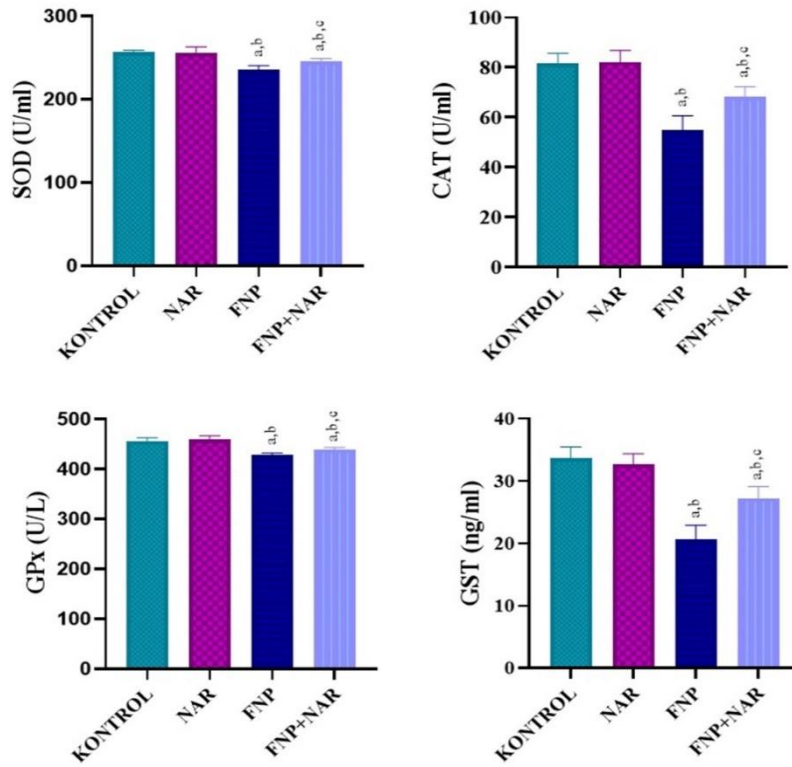
Kan ve dalak dokusunda, fenamifos uygulanan gruplarla, kontrol ve naringenin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde anlamlı bir artış meydana geldi. Fenamifos+naringenin uygulanan gruba, fenamifos uygulanan grup karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 1).

Kan ve dalak dokusunda antioksidan enzim aktivitelerini belirlemek amacıyla yapılan incelemede fenamifos uygulanan gruplardaki enzimatik aktivitelerde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu belirlendi. Fenamifos+Naringenin uygulanan grupta, fenamifos uygulanan gruba göre enzimatik aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme meydana geldi ($p < 0.05$) (Şekil 2 ve 3).

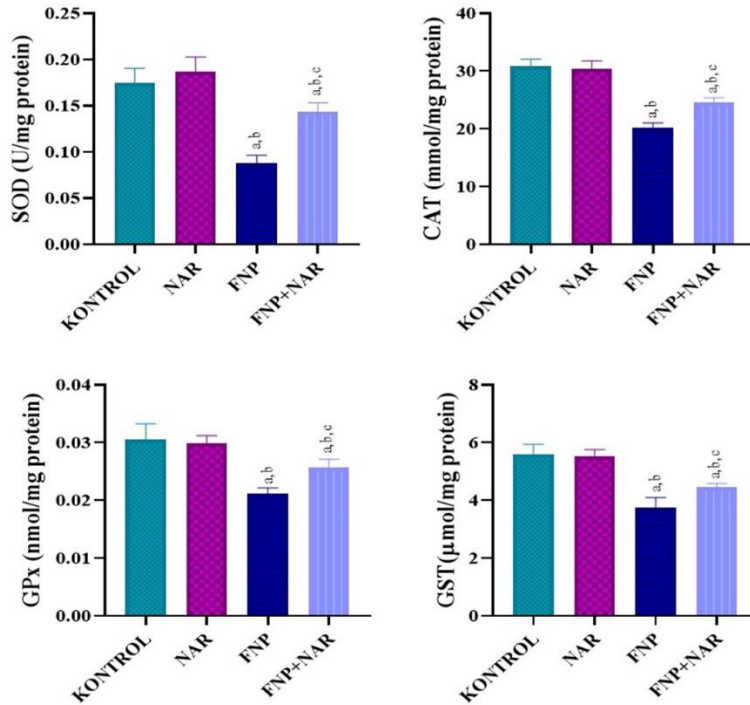


Şekil 1. Wistar ratların kan ve dalak dokusunda fenamifos maruziyetine karşı naringenin MDA düzeyleri üzerine koruyucu etkisi. ^aKontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark. ^bNaringenin (NAR) grubu ile diğer grup arasında anlamlı fark. ^cFenamifos (FNP) grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark. Ortalama \pm standart sapma ($p < 0.05$)

Fenamifos'un Sıçan Kan ve Dalak Dokusunda Sebep Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Naringenin'in Koruyucu Rolü



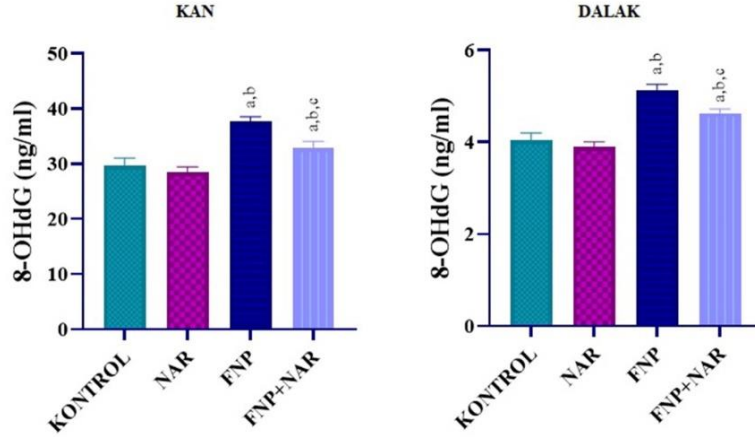
Şekil 2. Wistar ratların kan dokusunda fenamifos maruziyetine karşı naringenin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine koruyucu etkisi. ^aKontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark. ^bNaringenin (NAR) grubu ile diğer grup arasında anlamlı fark. ^cFenamifos (FNP) grubu ile diğer gruplar arasında önemli fark. Ortalama \pm standart sapma ($p < 0.05$)



Şekil 3. Wistar ratların dalak dokusunda fenamifos maruziyetine karşı naringenin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine koruyucu etkisi. ^aKontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark. ^bNaringenin (NAR) grubu ile diğer grup arasında anlamlı fark. ^cFenamifos (FNP) grubu ile diğer gruplar arasında önemli fark. Ortalama \pm standart sapma ($p < 0.05$)

Oksidatif DNA Hasarının Değerlendirilmesi

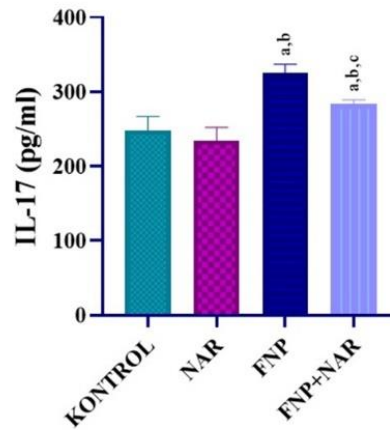
Araştırmadan elde edilen verilere göre, kan ve dalak dokusunda 8-OHdG düzeyinde kontrol ve naringenin grupları arasında anlamlılık oluşturacak istatistiksel bir fark meydana gelmedi. Fenamifos uygulanan grup, kontrol ve naringenin uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında anlamlılık oluşturacak istatistiksel bir artış gözlemlendi. Fenamifos+Naringenin uygulanan grup, fenamifos uygulanan grupla karşılaştırıldığında anlamlılık oluşturacak istatistiksel bir azalma belirlendi ($p<0.05$) (Şekil 4).



Şekil 4. Wistar ratların kan ve dalak dokusunda fenamifos maruziyetine karşı naringenin'in 8-OHdG düzeyleri üzerine koruyucu etkisi. ^aKontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark. ^bNaringenin (NAR) grubu ile diğer grup arasında anlamlı fark. ^cFenamifos (FNP) grubu ile diğer gruplar arasında önemli fark. Ortalama \pm standart sapma ($p<0.05$)

İnterlökin -17 (IL-17) Seviyesinin Değerlendirilmesi

Kan dokusunda İnterlökin -17 (IL-17) seviyesinde yapılan inceleme sonucunda, kontrol ve naringenin gruplarında anlamlılık oluşturacak istatistiksel bir farklılık meydana gelmedi. Fenamifos uygulanan grup, kontrol ve naringenin uygulanan grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Fenamifos+Naringenin uygulanan grup, fenamifos uygulanan grupla karşılaştırıldığında anlamlılık oluşturacak istatistiksel bir azalma belirlendi ($p < 0.05$) (Şekil 5).



Şekil 5. Wistar ratların kan dokusunda fenamifos maruziyetine karşı naringenin'in IL-17 düzeyleri üzerine koruyucu etkisi. ^aKontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark. ^bNaringenin (NAR) grubu ile diğer grup arasında anlamlı fark. ^cFenamifos (FNP) grubu ile diğer gruplar arasında önemli fark. Ortalama \pm standart sapma ($p<0.05$)

Tarımsal amaçlarla en yaygın kullanılan insektisitler arasında piretroidler ve organofosfatlı bileşikler bulunmaktadır. Bu gruplardaki pestisitlerin yoğun kullanımının memelilerde ve hedef olmayan diğer canlılarda nörotoksite gösterdiği belirtilmiştir (Sogorb ve Vilanova, 2002). Pestisitlerin insanlarda ve hayvanlarda kanserojen ve endokrin bozucu etki gösterdiği belirtilmektedir (Bahadar ve

ark., 2015; Adiguzel ve Kalender, 2020). Pestisitlerin çoğu, lipofilik olmaları nedeniyle lipit bakımından zengin biyomembranlar aracılığıyla canlı organizmalar ile etkileşime girer. Serbest radikallerin oluşumu pestisitlerin toksisitesinde önemli bir faktördür (Banerjee ve ark., 2001).

Fenamifos, toprak nematodlarının kontrolü için yaygın olarak kullanılan bir nematisit-insektisittir. Fenamifos ve oksidasyon ürünlerinin sucul organizmalarının yanı sıra su kirliliğini, toprak kirliliğini ve ekotoksikolojik etkileri indüklediği bilinmektedir (Romeh ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda fenamifos için sıçanlarda LD₅₀ dozunun 19 mg/kg olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark., 2006).

Kan önemli bir doku olup herhangi bir pestisit maruziyeti durumunda hematolojik parametrelerde meydana gelecek değişiklikler diğer doku ve organlarda kendini gösteren metabolik bozuklukları gözlemlenmek açısından önem arz etmektedir (Bojarski ve Witeska, 2020; Karaboduk ve Kalender, 2021). Yine aynı şekilde dalakta vücuttaki önemli görevleri yerinde getiren lenfatik bir organ olup, toplam lenfositin büyük çoğunluğu bu organda bulunmaktadır. Bağışıklık tepkisinin başlamasında ve eritrositlerin yıkımında rol oynar (Altamura ve ark., 2001).

Pestisitlerin reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olarak birçok dokuda oksidatif stres meydana getirdiği ifade edilmiştir. Pestisit toksisitesinin altında yatan mekanizmalardan biri de lipid peroksidasyonudur (LPO) (Demir ve ark., 2011). MDA, peroksitlenmiş çoklu doymamış yağ asitlerinin son ürünlerinden biridir. MDA seviyesinde gözlenen bir artış LPO varlığının kanıtı olarak ifade edilmektedir (Durak ve ark., 2010). Bu çalışmada uygulanan fenamifos insektisiti kan ve dalak dokusunda MDA düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış meydana getirmiştir. Organofosfatlı insektisitlerin kan ve dalak üzerine yapılmış araştırmalarda MDA seviyeleri üzerinde neden oldukları etki ve sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumluluk göstermektedir (Ojha ve ark., 2011; Baş ve ark., 2022). Bu çalışmada da fenamifos kan ve dalak dokusunda lipit peroksidasyonuna neden olmuştur.

Antioksidan enzimler, SOD, CAT, GPx, ve GST, hücresel düzeyde hasarı ilerleten reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde aktif görev alırlar (Kalender ve ark., 2015; Baş ve Kalender, 2016). CAT ve SOD serbest radikal üretiminde rol oynayan H₂O₂'nin temizlenmesinde görev alırken, GPx ve GST çeşitli ksenobiyotiklerin detoksifiyesinde rol oynarlar (Eraslan ve ark., 2007; Baş ve ark., 2015; Djuric ve ark., 2015). Bu çalışmada fenamifos antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya yol açmıştır. Antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmanın sebebi, süperoksit, hidroksil ve peroksit radikallerinin aşırı artışına bağlanabilir (Ojha ve ark., 2011; Quintana ve ark., 2018).

İnflamasyon konak savunma mekanizmalarına yönelik saldırıları nötralize etmek, ayrıca dokuların yapı ve işlevlerini yeniden normal hale getirmeyi amaçlayan bir dizi reaksiyonlardır. İnflamasyon çeşitlerinden biri de, algılanan bir patojene yanıt olarak polimorfonükleer lökositlerin üretilmesidir (Dosumu ve ark., 2021). İnterlökin (IL)-17, altı homodimerik molekülden oluşan, aktive edilmiş ve T lenfositleri tarafından üretilen bir sitokindir. IL-17'nin sistemik veya lokal olarak yukarı yönlü regülasyonu, proinflatuvar cevapların başlatılmasına ve aracılık etmesine işaretir (Miljkovic ve ark., 2005). Yapılan araştırmalar oksidatif stres artışının, hücre döngüsünü bozarak, protein ve DNA gibi yapılara zarar verdiğini göstermektedir (Rajendran ve ark. 2014). DNA zincirinde oksidatif strese en duyarlı bazın guanin nükleotiti olduğu ve buna bağlı olarak da, ROS artışı ile 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) oluşumu arasında doğrusal bir ilişki olduğu ifade edilmiştir (Geyik ve ark., 2016). 8-OHdG, oksidatif strese bağlı DNA hasarını göstermek için en çok kullanılan biyobelirteçlerden biridir (Küçükler ve ark., 2020; Yıldız ve ark., 2022). Bu çalışmada fenamifos kan dokusunda IL-17 ve 8-OHdG düzeyinde artışa yol açmıştır. Aynı şekilde dalak dokusunda 8-OHdG düzeyinde de artış meydana getirmiştir. Bunun sebebi fenamifosun kan ve dalak dokusunda yarattığı aşırı serbest radikale bağlanabilir.

Çeşitli biyoaktivitelere sahip doğal ürünler farklı farmasötik potansiyele sahiptir. Flavonoidler insanların günlük beslenmesinde en çok bulunan antioksidanlardır. Antioksidatif, antibakteriyel, antitümör, antiinflamatuvar, antimutagenik, miyokardiyal koruyucu, vazodilatör ve hepatoprotektif aktiviteleri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmüştür (Wang ve ark., 2012; Apaydın ve ark., 2018). Naringenin de bu flavanoidlerden biri olup, domates, turuncgiller ve kakao gibi bitkisel ürünlerde bolca bulunan, terapötik etkinlikler açısından zengin bir bileşiktir (Rai ve ark., 2023).

SONUÇ

Bu çalışmada fenamifos sıçanların kan ve dalak dokusunda oksidatif strese neden olurken, güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olan naringenin oksidatif hasarı azaltan bir etkisinin olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre naringenin antioksidatif bir etki gösterdiğini söylemek mümkündür.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızın deney hayvanları kısmını maddi olarak destekleyen G.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Adiguzel, C. & Kalender, Y. (2020). Bendiocarb-induced nephrotoxicity in rats and the protective role of vitamins C and E. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 6449-6458. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07260-x>
- Adiguzel, C., Karaboduk, H., Apaydin, F. G., Kalender, S. & Kalender, Y. (2023). Comparison of nickel oxide nano and microparticles toxicity in rat liver: molecular, biochemical, and histopathological study. *Toxicology Research*, tfad062. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfad062>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Altamura, M., Caradonna, L., Amati, L., Pellegrino, N. M., Urgesi, G. & Miniello S. (2001). Splenectomy and sepsis: the role of the spleen in the immunemediated bacterial clearance. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 23, 153-161. <https://doi.org/10.1081/IPH-100103856>
- Ameer, B., Weintraub, R. A., Johnson, J. V., Yost, R. A. & Rouseff, R. L. (1996). Flavanone absorption after naringin, hesperidin, and citrus administration. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 60(1), 34-40. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(96\)90164-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(96)90164-2)
- Apaydın, F., Uzunhisarcıklı, M., Aslantürk, A. & Kalender, S. (2018). Bisphenol a-induced histopathological alterations on small intestine tissues of rats: The protective role of taurine and curcumin. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 8(2), 43-47. <https://doi.org/10.21597/jist.427870>
- Banerjee, B. D., Seth, V. & Ahmed, R. S. (2001). Pesticide-induced oxidative stress: perspective and trends. *Reviews on environmental health*, 16(1), 1-40. <https://doi.org/10.1515/REVEH.2001.16.1.1>
- Baş, H. & Kalender, Y. (2011). Chlorpyrifos induced cardiotoxicity in rats and the protective role of quercetin and catechin. *Gazi University Journal of Science*, 24(3), 387-395.

- Baş, H., Kalender, Y., Pandir, D. & Kalender, S. (2015). Effects of lead nitrate and sodium selenite on DNA damage and oxidative stress in diabetic and non-diabetic rat erythrocytes and leucocytes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(3), 1019-1026. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.03.012>
- Baş, H. & Kalender, Y. (2016). Nephrotoxic effects of lead nitrate exposure in diabetic and nondiabetic rats: Involvement of oxidative stress and the protective role of sodium selenite. *Environmental Toxicology*, 31(10), 1229-1240. <https://doi.org/10.1002/tox.22130>
- Baş, H., Apaydın, F. G., Kalender, S., Aydoğdu, G., Adıgüzel, Ç., Taştan, H. & Kalender, Y. (2022). Dimethoate-induced oxidative stress and DNA damage in rat blood cells: preventive effects of ferulic acid. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 79(2), 243-254. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2022.09734>
- Bojarski, B. & Witeska, M. (2020). Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish-a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 19236-19250. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8>
- Caceres, T., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N. & Naidu, R. (2010). Fenamiphos and related organophosphorus pesticides: environmental fate and toxicology (pp. 117-162). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_3
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-75. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Demir, F., Uzun, F. G., Durak, D. & Kalender, Y. (2011). Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(1), 77-81. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.11.002>
- Durak, D., Kalender, S., Uzun, F. G. & Kalender, Y. (2010). Mercury chloride-induced oxidative stress in human erythrocytes and the effect of vitamins C and E in vitro. *African Journal of Biotechnology*, 9(4), 488-495.
- Djuric, A., Begic, A., Gobeljic, B., Stanojevic, I., Ninkovic, M., Vojvodic, D., Pantelic, A., Zebic, G., Prokic, V., Dejanovic, B., Stojanovic, I., Pavlica, M., Djukic, D., Saso, L., Djurdjevic, D., Pavlovii, M., Topic, A., Vujanovic, D., Stevnovic, I. & Djukic, M. (2015). Oxidative stress, bioelements and androgen status in testes of rats subacutely exposed to cadmium. *Food Chemical Toxicology*, 86, 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.09.004>
- Dosumu, O. A., Rotimi, S. O., Adeleye, O. O., Akamo, A. J., Osinuga, K. T., Taiwo, O. A., Omotosho, O.O. & Sani, L. O. (2021). Vitamin K protects against 7, 12-dimethylbenz (A) anthracene induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Environmental Toxicology*, 36(3), 362-373. <https://doi.org/10.1002/tox.23042>
- Eraslan, G., Saygi, S., Essiz, D., Aksoy, A., Gul, H. & Macit, E. (2007). Evaluation of aspect of some oxidative stress parameters using vitamin E, proanthocyanidin and n-acetylcysteine against exposure to cyfluthrin in mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.08.010>
- Habig, W. H., Pabst, M. J. & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8)

- Geyik, S., Altunısık, E., Neyal, A.M. & Taysi, S. (2016). Oxidative stress and DNA damage in patients with migraine. *The Journal Headache and Pain*, 17(10), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s10194-016-0606-0>
- Kalender, S., Apaydin, F. G., Baş, H. & Kalender, Y. (2015). Protective effects of sodium selenite on lead nitrate-induced hepatotoxicity in diabetic and non-diabetic rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40, 568-574. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.08.011>
- Karaboduk, H. & Kalender, Y. (2021). The effects of lead nitrate and mercury chloride on rat liver tissue. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(3), 2368-2379.
- Kiran, S. D. V. S., Rohini, P. & Bhagyasree, P. (2017). Flavonoid: A review on Naringenin. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 2778-2783.
- Kucukler, S., Darendelioğlu, E., Caglayan, C., Ayna, A., Yıldırım, S. & Kandemir, F.M. (2020). Zingerone attenuates vancomycin-induced hepatotoxicity in rats through regulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Life Sciences*, 259, 118382. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118382>
- Marklund, S. & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), 469-474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>
- Miljkovic, D., Cvetkovic, I., Momcilovic, M., Maksimovic-Ivanic, D., Stosic-Grujicic, S. & Trajkovic, V. (2005). Interleukin-17 stimulates inducible nitric oxide synthase-dependent toxicity in mouse beta cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 2658-2668. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5259-0>
- Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- Ojha, A., Yaduvanshi, S. K. & Srivastava, N. (2011). Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2), 148-156. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.11.011>
- Paglia, D.E. & Valentine, W.N. (1987). Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 158-165.
- Rai, R., Jat, D. & Mishra, S. K. (2023). Naringenin ameliorates aluminum toxicity-induced testicular dysfunctions in mice by suppressing oxidative stress and histopathological alterations. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 1-7. <https://doi.org/10.1080/19396368.2023.2203794>
- Rashmi, R., Magesh, S. B., Ramkumar, K. M., Suryanarayanan, S. & SubbaRao, M. V. (2018). Antioxidant potential of naringenin helps to protect liver tissue from streptozotocin-induced damage. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 7(1), 76.
- Romeh, A. A. & Hendawi, M. Y. (2017). Biochemical interactions between Glycine max L. silicon dioxide (SiO₂) and plant growth-promoting bacteria (PGPR) for improving phytoremediation of soil contaminated with fenamiphos and its degradation products. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 142, 32-43. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.01.001>
- Qader, B., Baron, M. G., Hussain, I., Johnson, R. P. & Gonzalez-Rodriguez, J. (2019). Electrochemical determination of the organophosphate compound Fenamiphos and its main metabolite, Fenamiphos sulfoxide. *Monatshefte Für Chemie-Chemical Monthly*, 150, 411-417. <https://doi.org/10.1007/s00706-018-2334-4>

- Quintana, M. M., Osimani, V. R., Magnarelli, G., Rovedatti, M. G. & Guiñazú, N. (2018). The insecticides chlorpyrifos and acetamiprid induce redox imbalance in umbilical cord blood erythrocytes in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 148, 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.04.001>
- Singh, B. K., Walker, A. & Wright, D. J. (2006). Bioremedial potential of fenamiphos and chlorpyrifos degrading isolates: influence of different environmental conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2682-2693. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.019>
- Thiermann, H., Mast, U., Klimmek, R., Eyer, P., Hibler, A., Pfab, R., Felgenhauer, N. & Zilker, T. (1997). Cholinesterase status, pharmacokinetics and laboratory findings during obidoxime therapy in organophosphate poisoned patients. *Human & Experimental Toxicology*, 16(8), 473-480. <https://doi.org/10.1177/096032719701600809>
- Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z. & Liu, X. (2012). Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological Trace Element Research*, 146, 354-359. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9268-6>
- Wang, Y. S., Tai, K. T. & Yen, J. H. (2004). Separation, bioactivity, and dissipation of enantiomers of the organophosphorus insecticide fenamiphos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57(3), 346-353. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.08.012>
- Wang, J., Zhu, H., Lin, S., Wang, K., Wang, H. & Liu, Z. (2021). Protective effect of naringenin against cadmium-induced testicular toxicity in male SD rats. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 214, 111310. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111310>
- Wilcox, L. J., Borradaile, N. M. & Huff, M. W. (1999). Antiatherogenic properties of naringenin, a citrus flavonoid. *Cardiovascular Drug Reviews*, 17(2), 160-178. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3466.1999.tb00011.x>
- Yıldız, M.O., Çelik, H., Caglayan, C., Genç, A., Doğan, T. & Satici, E. (2022). Neuroprotective effects of carvacrol against cadmium-induced neurotoxicity in rats: role of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Metabolic Brain Disease*, 37, 1259-1269. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-00945-2>
- Zaidun, N. H., Thent, Z. C. & Abd Latiff, A. (2018). Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sciences*, 208, 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.07.017>

To Cite: Salur, A. & Miroğlu, A. (2024). Abnormalities in Some Odonata Larvae Which Do Not Hinder Development . *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 636-641.

Abnormalities in Some Odonata Larvae Which Do Not Hinder Development

Ali SALUR^{1*}, Ali MİROĞLU²

Highlights:

- Environmental change
- Stress
- Diagnostic character

Keywords:

- Odonata
- Larvae
- Abnormal body parts
- Antennae
- Labium

ABSTRACT:

Larval abnormalities in insects can be a sign of environmental changes and stress. Therefore, these abnormalities could serve as bioindicators of environmental shifts. This study examined larvae of *Onychogomphus forcipatus albotibialis* Schmidt, 1954, *Sympetrum sanguineum* (Müller, 1764), and *Platycnemis pennipes* (Pallas, 1771) species. The antennae of *O. forcipatus albotibialis* larvae displayed various deformities. Unexpected changes in the setae series in the mentum region of the labia of *S. sanguineum*, a diagnostic characteristic, were also observed. Additionally, *P. pennipes* had a deficiency in the labial palp setae. By understanding how different factors can affect larval development and how these changes can manifest in different parts of the body, the findings of the present study emphasize the importance of identifying and diagnosing these species through the images of the anomalies observed.

¹Ali SALUR ([Orcid ID: 0000-0003-0761-3857](https://orcid.org/0000-0003-0761-3857)), Hitit University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, Çorum, Türkiye

²Ali MİROĞLU ([Orcid ID: 0000-0001-8990-0766](https://orcid.org/0000-0001-8990-0766)), Ordu University, Fatsa Faculty of Marine Sciences, Fisheries Technology Engineering, Fatsa/Ordu, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ali SALUR, e-mail: alisalur@gmail.com

INTRODUCTION

Insect larvae undergo significant changes in their physical form and behavior during development. In particular, dragonfly larvae show variable responses to the increasing impacts of climate change (Trong et al., 2021), highlighting the need to understand the impact of environmental factors on their development and survival. Congenital malformations in insect larvae can be caused by a variety of factors including exposure to hypoxia or anoxia, infection with pathogens, the social environment, chemicals, pollutants, and toxins (Ingram, 1976; Smagghe & Degheele, 1992; Tasei, 2001; Adamski & Ziemnicki, 2004; Kunz & Seidenbusch, 2006; Haq, 2012; Rodríguez-Martínez & Torralba-Burrial, 2012; Sesterhenn et al., 2013; Callier et al., 2015; Gładysz et al., 2016; Pulliainen et al., 2022).

Dragonfly larvae are sensitive to various environmental factors, including habitat degradation, land-use change, habitat structure and complexity, predation, pollution, water chemistry, and climate change (Luke et al., 2017; Mokaria & Jethva, 2019; Trong et al., 2021). Research suggests that abnormalities in larval development may be significantly influenced by the aforementioned factors.

This study examines anomalies found in larvae of *Onychogomphus forcipatus albotibialis*, *Sympetrum sanguineum*, and *Platycnemis pennipes* and discusses possible causes.

MATERIALS AND METHODS

Specimens were collected by hand scoop during fieldwork. Larvae were killed in 70% ethanol. When the specimens were brought to the laboratory, they were stored in dark colored bottles containing Oudemans liquid. The specimens were photographed with an Olympus e330 DSLR camera attached to an Olympus SZX10 microscope.

The information on the odonata specimens, which are the subject of this study, are as follows.

Onychogomphus forcipatus albotibialis: 1 specimen, Adana, Feke, Göksu river, 37°48'49.1"N 35°55'25.5"E, 563 m., 07/05/2002; 1 specimen, Muğla, Seydikemer, Demirler village, Eşen river, 36°27'27.4"N 29°19'39.2"E, 44 m., 21/04/2001; *Sympetrum sanguineum*: 1 specimen, Denizli, Bozkurt (plateau of Çambaşı, Karagöl), 37°44'N 29°29'E, 1280 m, 08/08/2000; *Platycnemis pennipes*: 1 specimen, Tokat, Niksar, Kümbetli, 27/06/2005, 40° 37' N 36° 48' E, 258 m.

No specimens with other congenital anomalies have been found in other collections made in the localities of the specimens in which abnormal structures were observed.

RESULTS AND DISCUSSION

In the specimen of *O. f. albotibialis* collected from Adana-Feke, the pedicellus and scapus parts of the left antennae appeared normal, but the flagellum part of the right antenna was severed (Figure 1). This is a common occurrence in predatory insect larvae. The difficulties these insects face during their development often result in damaged antennae, a crucial aspect of their natural selection process. Antennae are responsible for enabling insects to sense scents around them, which helps predatory insects locate their prey. Research has shown that damaged antennae in insects can reduce their sensing abilities. For example, Murlis et al. (2000) found that damaged antennae in male moths significantly reduced their ability to detect female pheromones that are crucial for mating. Similarly, Goulson et al. (2005) found that damaged antennae in bumblebees led to a significant reduction in their ability to detect floral scents, which are essential for foraging.



Figure 1. *O. forcipatus albotibialis* antennae (from the dorsum of the head) (Adana province)

In the specimen of *O. f albotibialis* collected from Muğla-Seydikemer, the right antenna was normal, but the flagellum part of the left antenna was short due to a developmental disorder (Figure 2). This may indicate a genetic defect or the chemical effect of environmental factors. Yorulmaz et al. (2015) investigated the water quality of the Esen River in their study and focused on the effect of fish farms on river water quality. The authors mentioned that relatively high EC BOD5 NO₃-N, PO₄-P levels, and relatively low DO are evidence of organic pollution caused by fish farms. The average nitrite nitrogen (NO₂-N) was also high in this sampling point. According to the authors, intensive fish farming decreased the ecological water quality of the river in this sampling point. Ingram (1976) demonstrated that environmental factors such as temperature and photoperiod could cause anomalies in the wing pads of larvae of different odonata species. Even small temperature changes in water temperature have been shown to cause abnormalities in larvae. The reason for the anomaly observed in this study is that the fish farms located near the specimen of *O. f albotibialis* collected from the Muğla-Seydikemer collection point adversely affect the chemistry of the water.

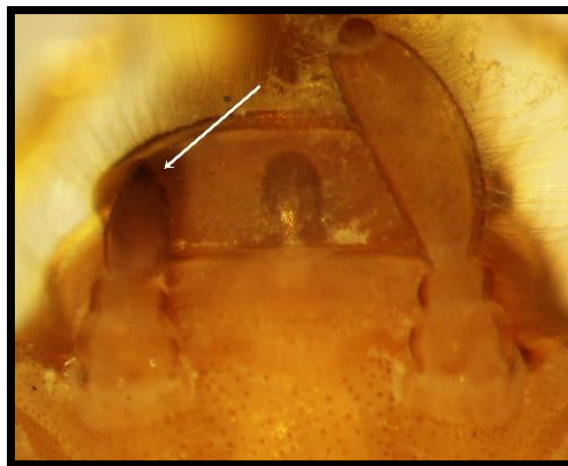


Figure 2. *O. forcipatus albotibialis* antennae (from the dorsum of the head) (Muğla province)

In the *S. sanguineum* species, it is characteristic to have long and short setae in rows on the right and left parts of the mentum of the labia. In the collected specimen, it was observed that while the arrangement of these setae was regular and normal in the right part, it was abnormal and clustered in the left part (Figure 3). This clustering goes against the diagnostic character of the species. It is worth noting that this anomaly does not pose a problem in hunting or feeding this insect, but it does cause deviation from its diagnostic character. Kunz and Seidenbusch (2006) previously stated that there is a deficiency in the left labial palp in *Sympetrum sinaiticum* larvae, and that the setae on the mask are longer in the

missing palp. Perhaps these longer setae develop successfully by giving it an advantage in feeding the larva. The anomaly caused by the hair growth in the larvae is not harmful in terms of nutrition.



Figure 3. *Sympetrum sanguineum* labium

Regarding the *P. pennipes* species, it is noteworthy that there was only one seta instead of the expected three setae in the right labial palp part of the specimen (Figure 4). The other two setae were observed to be congenitally deficient. Of the two lacking setae, only the basal part of one of them was formed. However, this is not significant in terms of the insect's ability to hunt or live its daily life, as in the case of *S. sanguineum*.



Figure 4. *Platycnemis pennipes* labium

CONCLUSION

The findings of the study highlight the importance of identifying and diagnosing species through the anomalies observed in their larvae. Larval abnormalities in insects can be indicative of environmental changes and stress (Ingram, 1976; Gladysz et al., 2016; Jeremiason, et al., 2016), and therefore can serve as biological indicators of environmental changes. Many factors, both internal and external, can influence larval abnormalities in insects. These factors include toxic algae, pollution, parasites and pathogens (Xiong et al., 2006). Congenital malformations in insect larvae can occur due to a variety of factors, including exposure to chemicals, pollutants and toxins, as well as exposure to insect growth regulators (Tasei, 2001; Adamski & Ziemnicki, 2004; Haq, 2012). Additionally, the diversity and

community composition of dragonflies can be influenced by a variety of factors, including habitat structure and complexity, predation, pollution and water chemistry (Luke et al., 2017; Mokaria & Jethva, 2019; Trong et al., 2021). For example, some larval anomalies detected in *Libellula quadrimaculata*, an odonate species, may be due to heavy metals, which are contaminants commonly found in water (Gładysz et al., 2016). Likewise, larval anomalies have been detected in odonates due to methylmercury contamination (Jeremiason et al., 2016).

If an evaluation is made in the light of all this information, further research is needed to fully understand the complex interactions between environmental factors and larval development in aquatic insects. Such investigations may involve investigating possible causes, such as the chemical effects of environmental factors, and identifying possible remedies to reduce or control the impact of such factors. The conservation of biodiversity is critical in addressing these concerns, and this research could provide the necessary information for the conservation of species and prevent similar concerns from arising in the future.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to express our sincere thanks to Prof. Dr. Mustafa Cemal Darilmaz (Aksaray Univ., Aksaray, Türkiye) and Assoc. Prof. Dr. Şafak Bulut (Hitit Univ., Çorum, Türkiye) for their help and consideration in various ways concerning our study.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Adamski, Z. & Ziemnicki, K. (2004). Side-effects of mancozeb on *Spodoptera exigua* (Hübner) larvae. *Journal of Applied Entomology*, 128, 212-217.
- Callier, V., Hand, S. C., Campbell, J. B., Biddulph, T. A. & Harrison, J. F. (2015). Developmental changes in hypoxic exposure and responses to anoxia in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 218, 2927-2934.
- Gładysz, M., Doleżych, B., Cuber, P., Karcz, J., Łaszczycza, P. & Miszta, A. (2016). Mud sediments on anal pyramids of *Libellula quadrimaculata* larvae – accidental phenomenon or bioindicator of heavy metal pollution? (Odonata: Libellulidae). *Odonatologica*, 45, 179-189.
- Goulson, D., Hanley, M. E., Darvill, B., Ellis, J. S. & Knight, M. E. (2005). Causes of rarity in bumblebees. *Biological Conservation*, 122, 1-8.
- Haq, R. (2012). Hazardous effects of lead acetate on heavy proteins of *Bactrocera zonata*. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 8, 366-369.
- Ingram, B. R. (1976). Effects of photoperiod and temperature on abnormal wing-pad development in two species of Odonata. *Canadian Journal of Zoology*, 54, 1103-1110.
- Jeremiason, J. D., Reiser, T. K., Weitz, R. A., Berndt, M. E. & Aiken, G. R. (2016). Aeshnid dragonfly larvae as bioindicators of methylmercury contamination in aquatic systems impacted by elevated sulfate loading. *Ecotoxicology*, 25, 456-468.
- Kunz, B. & Seidenbusch, R. (2006). Erfolgreiche Larvalentwicklung bei *Sympetrum sinaiticum* trotz erheblicher Missbildung der Fangmaske (Odonata: Libellulidae). *Libellula*, 25, 77-82.

- Luke, S. H., Dow, R. A., Butler, S., Khen, C. V., Aldridge, D. C., Foster, W. A. & Turner, E. C. (2017). The impacts of habitat disturbance on adult and larval dragonflies (Odonata) in rainforest streams in Sabah, Malaysian Borneo. *Freshwater Biology*, 62, 491-506.
- Mokaria, K. & Jethva, B. (2019). A study on diversity and habitat characterisation of Odonata at Nalsarovar Bird Sanctuary, India. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*, 6, 26-34.
- Murlis, J., Willis, M. A. & Cardé, R. T. (2000). Spatial and temporal structures of pheromone plumes in fields and forests. *Physiological Entomology*, 25, 211-222.
- Pulliaainen, U., Morandin, C., Bos, N., Sundström, L. & Schultner, E. (2022). Social environment affects sensory gene expression in ant larvae. *Insect Molecular Biology*, 31, 1-9.
- Rodríguez-Martínez, S. & Torralba-Burrial, A. (2012). Teratología en el paraprocto derecho de una exuvia de *Aeshna cyanea* (Müller, 1764) (Odonata: Aeshnidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 51, 321-322.
- Sesterhenn, T. M., Reardon, E. E. & Chapman, L. J. (2013). Hypoxia and lost gills: Respiratory ecology of a temperate larval damselfly. *Journal of Physiology*, 59, 19-25.
- Smaghe, G. & Degheele, D. (1992). Effects of RH 5849, the first nonsteroidal ecdysteroid agonist, on larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 21, 119-128.
- Tasei, J. N. (2001). Effects of insect growth regulators on honey bees and non-Apis bees. *Apidologie*, 32, 527-545.
- Trong, K. H., Thi, N. D., Nhu Thi, Y. N., Thi, H. V. & Thanh Ho, Van Thi (2021) Impacts of climate change to the growth and development of the dragonflies of Tram Chim National Park, Tam Nong – Dong Thap, Vietnam. *IOP Conference Series: Materials Science Engineering*, 1092, 012090.
- Xiong, M., Qiao, Y., Rosenthal, H., Que, Y. & Chang, J. (2006). Early ontogeny of *Ancherythroculter nigrocauda* and effects of delayed first feeding on larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 502-509.
- Yorulmaz, B., Sukatar, A. & Barlas, M. (2015). Comparative analysis of biotic indices for evaluation of water quality of Esen River in South-West Anatolia, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24, 188-194.

Bibliometric Analysis of Multiple Sclerosis Studies in Pharmacology Journals

Mazhar ÖZKAN¹, Tuğba Nurcan YÜKSEL^{2*}, Fatih TOZOĞLU³

Highlights:

- On the highest number of documents was observed by the United States
- The most cited document is Therapeutic Advances in Neurological Disorders
- The most cited study is conducted by Ferreria-Vieira et al. (2016) and published in the 'Current Neuropharmacology' journal

ABSTRACT:

Multiple sclerosis (MS) is a prevalent neurological disease with a global impact on patients' lives. Our study aimed to conduct a bibliometric analysis of research published in the field of pharmacology over the past decade. We retrieved original articles on MS from pharmacology journals in the last ten years through the Scopus database. The collected data underwent analysis using VOSViewer software, examining relationships between studies based on parameters such as citation, authorship, and organizations. In our country-based analysis, the United States emerged with the highest document count, totaling 350, followed by Germany with 210 documents. Claudio Viegas holds the top position with four publications in the last decade. The most prolific organization identified was associated with the Biogen-Cambridge-MA-United States group. However, Chulalongkorn University in Bangkok, Thailand, specifically the Department of Psychiatry, received the most citations. The most cited document was "Therapeutic Advances in Neurological Disorders," while the study with the highest citations was Ferreria-Vieira et al.'s (2016) work published in Current Neuropharmacology. Research efforts on MS treatment are evidently growing, with diverse research groups contributing worldwide. We anticipate that our study will provide valuable guidance to researchers in the field by shedding light on significant research and their interconnections in recent years.

Keywords:

- Bibliometric analysis
- Multiple sclerosis
- Pharmacology
- VOSViewer

¹Mazhar ÖZKAN ([Orcid ID: 0000-0002-8745-2493](https://orcid.org/0000-0002-8745-2493)), Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Tekirdağ, Türkiye

^{2*}Tuğba Nurcan YÜKSEL ([Orcid ID: 0000-0001-5092-1674](https://orcid.org/0000-0001-5092-1674)), Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Tekirdağ, Türkiye

³Fatih TOZOĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-8882-9264](https://orcid.org/0000-0002-8882-9264)), Bilecik Şeyh Edebali University, Vocational School, Department of Food Technology, Bilecik, Türkiye

*Corresponding Author: Tuğba Nurcan YUKSEL, e-mail: tnyuksel@nku.edu.tr

The article was presented orally at the "Cumhuriyet 9th International Conference on Applied Sciences" held in Afyonkarahisar on August 30, 2023 and was published in full text.

INTRODUCTION

The clinical and phenotypic range of immune-mediated central nervous system (CNS) demyelinating disorders is extensive (Thompson et al., 2018). While specific clinical features are indicative of MS, its phenotypic expressions exhibit significant variability (Gelfand 2014). Multiple sclerosis (MS) stands as an immune-mediated disorder affecting the central nervous system. The heritability of MS risk accounts for around 25%, while the remaining susceptibility is associated with environmental, epigenetic, and gene–gene or gene–environment interactions (Olsson, Barcellos, & Alfredsson, 2017). MS is classified clinically into four types; and the studies are quite extensive (Gholamzad et al., 2019). MS incidence and prevalence are increasing globally. About 85 percent of patients experience MS starting with recurring episodes caused by inflammation, known as relapsing–remitting MS, followed by increasing impairment caused by neurodegeneration, known as secondary progressive MS (Dobson & Giovannoni, 2019). However, a small percentage of people (10-15%) endure continuous, non-relapsing advancement from illness start, which is referred to as primary progressive MS (Lin, Zhou, & Xu, 2023). Despite the rapid evolution of the therapeutic landscape, treatment options for the progressive disease are currently limited.

Treatments for MS primarily revolve around prescribed immunosuppressive and immunomodulating agents. Furthermore, researchers have developed a range of disease-modifying treatments to diminish attack frequency and regulate inflammation in affected individuals (Gholamzad et al., 2019). Treatments for multiple sclerosis have been effective in reducing disability and increasing survival rates, but no cure has been found, and the causes of the illness are still not fully understood. (Walton et al., 2020). The present state of MS therapy focuses on the following goals: reduction of biological activity, improvement of symptoms, prevention of recurrence and disability progression, and mitigation of biological activity during acute episodes (Hauser & Cree, 2020). Notably, there are a number of dangers associated with these treatments, including an increased incidence of common and opportunistic infections, even if they are quite effective.

Whereas qualitative methods are used in systematic literature reviews and are to interpretation biases from academics, bibliometric analysis and meta-analysis employ quantitative methods, mitigating such biases. The primary goal of meta-analysis is to synthesize empirical data by assessing the magnitude of effects and correlations between different variables. Whereas bibliometric analysis examines the social and structural links among various research components, it delineates and visualizes the intellectual and bibliometric structure of a field (e.g., authors, countries, institutions, topics). By providing scientists with a thorough perspective in one place, well-executed bibliometric research may lay strong groundwork for making unique and significant contributions to a subject. (Donthu, Kumar, Mukherjee, Pandey, & Lim, 2021; Kaba & Çoşkun, 2022).

In the literature, numerous studies have explored the comparison of various software applications utilized for bibliometric analysis (Aleixandre-Benavent et al., 2015; Yang, Tu, Feng, Lai, & Wang, 2021). An existing study specifically focuses on the bibliometric analysis of MS treatment (Aykaç & Eliaçık, 2022). However, a bibliometric analysis and contemporary data presentation of MS studies in pharmacology journals over the past decade are notably absent. Given this informational gap, the present study set out to fill it by analyzing pharmacological studies published in pharmacology journals over the past decade in an effort to shed light on research networks, current trends, and research on MS. In addition, our study will contribute both medically and academically to future studies on MS disease and its treatment, which affects the society significantly.

MATERIALS AND METHODS

Research Strategy

The Scopus database was queried for the bibliometric information (n=2803). For the purpose of filtering, the term "multiple sclerosis" was input. The study covered English articles published between 2013 and 2023 in the Pharmacology, Toxicology, and Pharmaceutics area.

Statistical analysis

Bibliometric analysis was performed on the data using VOSviewer 1.6.19, developed by Leiden University.

Utilizing VOSViewer software, graphs illustrating the interrelationships of the research were generated. Microsoft Excel was used to generate the tables.

RESULTS AND DISCUSSION

Over the past several years, bibliometric analysis has been increasingly prominent in the field of business research (Donthu et al., 2020b, Donthu, Kumar, Pattnaik, & Lim, 2021, Khan et al., 2021). The development, availability, and accessibility of bibliometric tools like VOSviewer, Gephi, and Leximancer, as well as scientific databases like Scopus and Web of Science, have contributed to this meteoric rise in popularity. In addition, bibliometric methodology's transfer from the field of information science to that of business research has been an important factor. Bibliographic analysis is becoming increasingly popular in business research for good reason: it is effective at handling massive amounts of scientific data and producing significant research impact, thus its tremendous growth is not a novelty (Donthu et al., 2021).

Frequent use of network visualization software in bibliometric analysis is observed. This software might be command-based, like R's Bibliometrix package, or totally graphical, like VOSviewer (van Eck & Waltman, 2010, Aria & Cuccurullo, 2017). Bibliometric analysis stands out as an emerging tool for obtaining more quantitative information on collaboration between diverse organizations, the impact of publications, and emerging trends (Albuquerque et al., 2017; Ellegaard & Wallin, 2015). Bibliometry involves the examination of scientific publications through diverse statistical methodologies (Demir, Akmeşe, Erbay, Taylan-Özkan, & Mumcuoğlu, 2020; Kosovali & Mutlu, 2023). This analytical strategy makes it easier to understand the dynamics of a study topic, identify patterns, and direct future research. It makes it easier to use data to draw conclusions that can shape how knowledge in a particular field develops. Bibliometric analysis, in contrast to meta-analysis, permits the evaluation of present trends (authors, journals, keywords) on a specific subject by processing citations. As a result, it provides a chance to identify areas where research is lacking and investigate potential partnerships or networks (Donthu et al., 2021).

MS is a debilitating disease that manifests in young adults, leading to progressive physical disability and cognitive impairment (McGinley, Goldschmidt & Rae-Grant AD, 2021). While the etiology of MS remains unknown, its pathophysiology has been linked to the development of autoreactive lymphocytes and antigen-presenting cells in the body (Simkins, Duncan & Bourdette, 2021). MS has undergone a therapeutic revolution in the past 30 years, witnessing the approval of over 20 subsequent therapies for relapsing-remitting MS. Notably, several therapies have expanded their indications to include progressive disease (Amin & Hersh, 2023). This transformative period has shifted the landscape from injectable therapies being the sole option to an environment that offers injectable, infusible, and oral therapies to patients. Moreover, there has been an improvement in the treatments' relative effectiveness over time. These advancements have resulted in less impairment due

to relapses and a marked decrease in their frequency (Peterson, Jalil, Beard, Kakara, & Sriwastava, 2022). Despite substantial progress in understanding the pathophysiology of MS and the proliferation of treatments aimed at preventing relapses, there remain unmet needs in halting and reversing disease progression, as evidenced by various references. At the same time, research groups worldwide actively explore new therapeutic agents and regularly publish their findings, especially in pharmacological journals. From 2013 to 2023, pharmacology journals published a total of 158 MS papers, which were analyzed, using bibliometric methods.

The utilization of diverse bibliometric tools, each reliant on distinct databases, may lead to variations in analysis outcomes, introducing challenges and limitations to researchers during literature review processes (AIRyalat, Malkawi, & Momani, 2019). In our study, we employed the Scopus database to identify the most influential articles, journals, researchers, and organizations associated with MS over the past decade. Additionally, we conducted keyword mapping to trace recurring keywords linked to idebenone in these studies, categorized by their respective years of occurrence

Looking at the breakdown of publications published on treatments for multiple sclerosis from 2013 to 2023, the most cited publication, with 1381 citations, was the study by Craik D.J. and colleagues, while other highly cited studies are detailed in Table 1.

Table 1. The Ten Most Cited Papers

| Documents | Citations |
|--|-----------|
| Craik et al. (2013) | 1381 |
| Luczynski et al. (2016) | 355 |
| Moghe et al. (2015) | 318 |
| Harbo et al. (2013) | 306 |
| Spagnuolo et al. (2018) | 267 |
| Noorafshan and Ashkani-esfahani (2013) | 256 |
| Achiron et al. (2021) | 237 |
| Watad et al. (2021) | 232 |
| Pruenster et al. (2016) | 226 |
| Witalison et al. (2015) | 197 |

Between 2013 and 2023, when investigating journals that published the most articles on MS, we found that Therapeutic Advances in Neurological Disorders was the most prolific with 130 documents and 2265 citations (Figure 1).

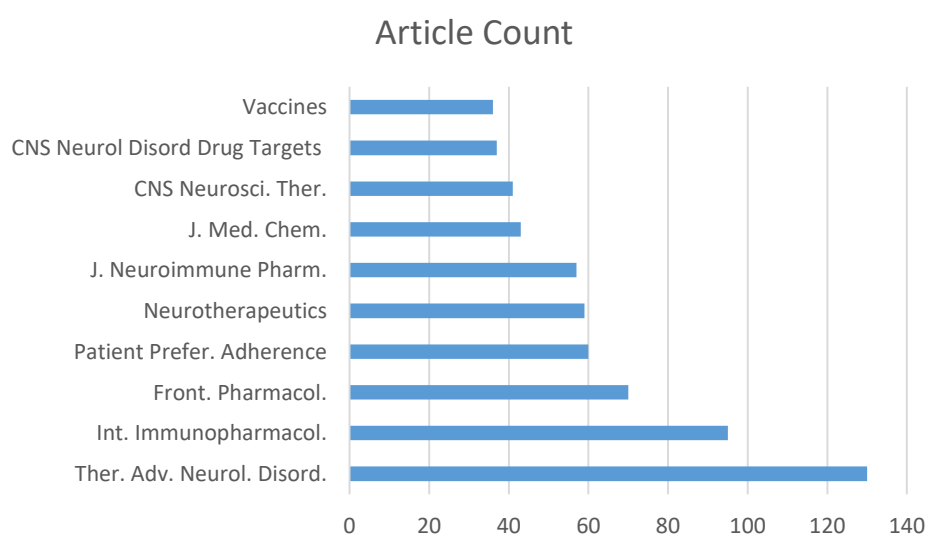


Figure 1. Ten Journals with the Highest Number of Published Articles

In the analysis conducted with VOSViewer, articles on MS published in the study area journals were distributed into four groups (Figure 2).

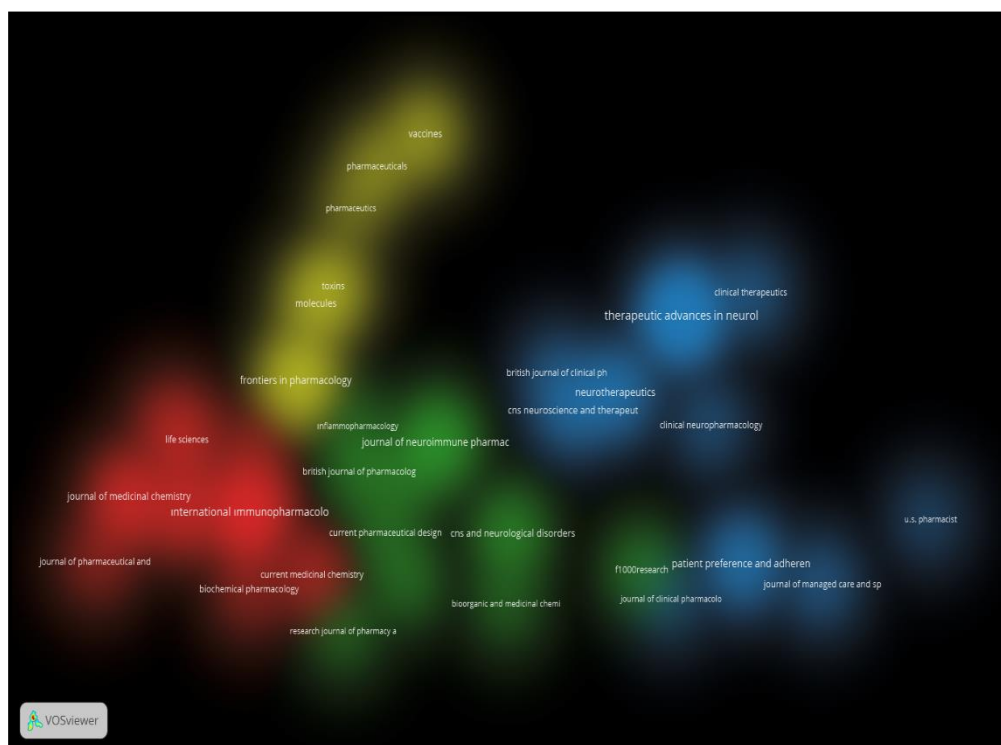


Figure 2. The Journal Clusters About MS Papers Published

The group linked with Biogen in Cambridge, Massachusetts, USA, produced the most documents (13 in total), as seen in Table 2. On the other hand, the Department of Psychiatry at Chulalongkorn University in Bangkok, Thailand, has the most citations with 212 over three articles.

Table 2. Top Ten Organizations By Documents

| Organizations | Documents | Total link strength |
|--|-----------|---------------------|
| Biogen, Cambridge, MA, United States | 26 | 12 |
| Tehran University of Medical Sciences Immunology Department | 11 | 9 |
| Novartis Pharmaceuticals Corporation, United States | 11 | 7 |
| Novartis Pharma, Switzerland | 10 | 7 |
| Medical University of Vienna Department of Neurology | 8 | 3 |
| Mashhad University of Medical Sciences Pharmacological Research Center of Medicinal Plants | 7 | 11 |
| Centre For Human Drug Research, Netherlands | 6 | 1 |
| Cairo University Faculty of Pharmacy Department of Pharmacology and Toxicology | 6 | 0 |
| Tarbiat Modares University Faculty of Medical Sciences Physiology Department | 6 | 0 |
| Tabriz University of Medical Sciences Drug Applied Research Center | 6 | 4 |

Figure 3 illustrates the network structures of the countries with the highest number of MS-papers in the last decade and the organizational distribution over the years. The United States stands out prominently in the analysis. We observed that other countries follow a similar arrangement as shown in Figure 3.

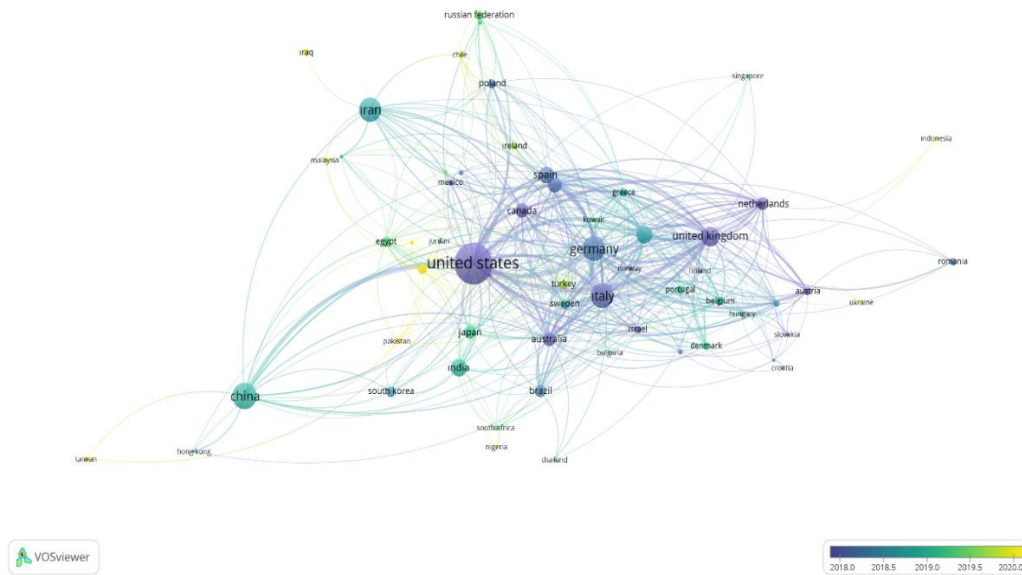


Figure 3. Arranging the Nations By Networking and Years with the Most Publications in the Past Decade

Figure 4 shows a cooccurrence map of twenty or more MS-related terms during the past decade. As seen in Figure 4, the primary term is "experimental autoimmune encephalopathy" and the additional terms are listed below.

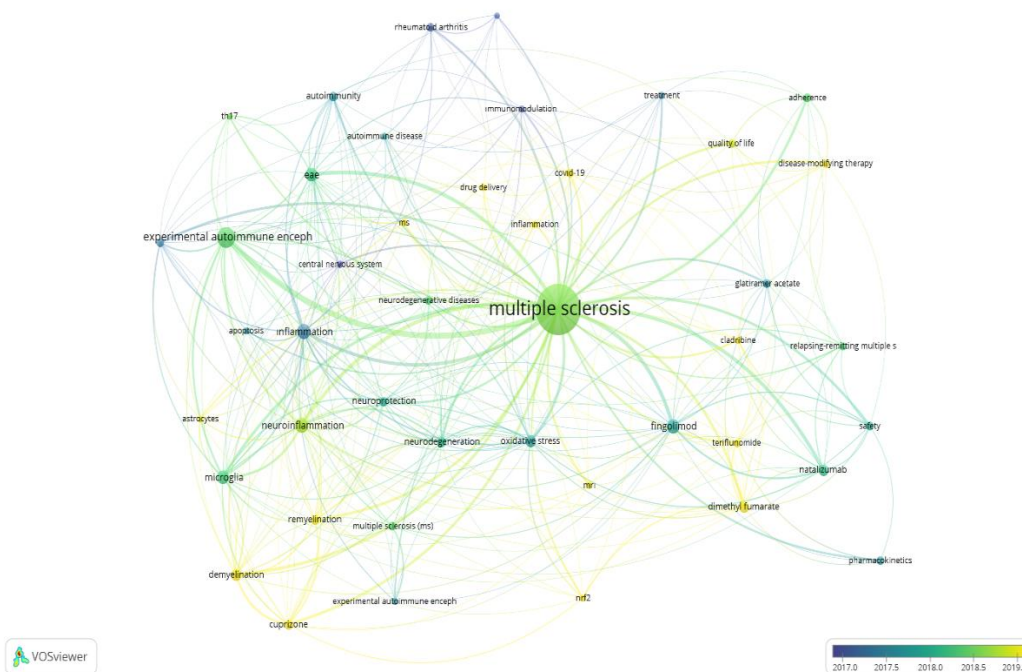


Figure 4. MS-Related Term Co-occurrence Map During the Past Decade

Claudio Viegas Jr. and Asher Mullard are two renowned authors who have contributed to pharmacology journals with their MS research published in the last decade. In contrast to Mullard's renown for covering FDA clearances, Viegas et al. focus in on pharmacological studies of neurodegenerative disorders like Alzheimer's. Hence, it may not be appropriate to include both of them

in MS research. The research does have a few caveats, though. One possibility is that there is incorrect or missing information in the database that we have not been able to find or fix. The second limitation is that we limited our evaluation to articles written in English. Nevertheless, as the first study to investigate pharmacological journal publications on MS disease from 2013 to 2023 and provide bibliometric analysis data, this research will contribute significantly to the literature. Moreover, it will guide future research on MS and its treatment by providing valuable insights.

CONCLUSION

The results of this study provide helpful information for writers looking for publications to publish their MS research in. We hope that by shedding light on research gaps and associated processes, our findings will provide researchers working with idebenone with a firm grounding..

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Albuquerque, P. C., Castro, M. J. C., Santos-Gandelman, J., Oliveira, A. C., Peralta, J. M., & Rodrigues, M. L. (2017). Bibliometric indicators of the Zika outbreak. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(1), e0005132.
- Aleixandre-Benavent, R., Alonso-Arroyo, A., Gonzalez de Dios, J., Vidal-Infer, A., Gonzalez-Munoz, M., & Sempere, A. P. (2015). Bibliometric profile of the global scientific research on multiple sclerosis (2003-2012). *Mult Scler*, 21(2), 235-245. doi:10.1177/1352458514540357
- Alryalat, S. A. S., Malkawi, L. W., & Momani, S. M. (2019). Comparing bibliometric analysis using PubMed, Scopus, and Web of Science databases. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(152), e58494.
- Amin, M., & Hersh, C. M. (2023). Updates and advances in multiple sclerosis neurotherapeutics. *Neurodegener Dis Manag*, 13(1), 47-70. doi:10.2217/nmt-2021-0058
- Aria, M., & Cuccurullo, C. (2017). bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of informetrics*, 11(4), 959-975.
- Aykaç, S., & Eliaçık, S. (2022). What are the trends in the treatment of multiple sclerosis in recent studies?—A bibliometric analysis with global productivity during 1980–2021. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 68, 104185.
- Demir, E., Akmeşe, Ö. F., Erbay, H., Taylan-Özkan, A., & Mumcuoğlu, K. Y. (2020). Bibliometric analysis of publications on house dust mites during 1980–2018. *Allergologia et immunopathologia*, 48(4), 374-383.
- Dobson, R., & Giovannoni, G. (2019). Multiple sclerosis - a review. *Eur J Neurol*, 26(1), 27-40. doi:10.1111/ene.13819
- Donthu, N., Kumar, S., Mukherjee, D., Pandey, N., & Lim, W. M. (2021). How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. *Journal of business research*, 133, 285-296.
- Ellegaard, O., & Wallin, J. A. (2015). The bibliometric analysis of scholarly production: How great is the impact? *Scientometrics*, 105, 1809-1831.
- Gelfand J.M. (2014). Multiple sclerosis: diagnosis, differential diagnosis, and clinical presentation. *Handb Clin Neurol*.

- Gholamzad, M., Ebtekar, M., Ardestani, M. S., Azimi, M., Mahmodi, Z., Mousavi, M. J., & Aslani, S. (2019). A comprehensive review on the treatment approaches of multiple sclerosis: currently and in the future. *Inflamm Res*, 68(1), 25-38. doi:10.1007/s00011-018-1185-0
- Hauser, S. L., & Cree, B. A. C. (2020). Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *Am J Med*, 133(12), 1380-1390 e1382. doi:10.1016/j.amjmed.2020.05.049
- Kaba, İ., & Çoşkun, N. (2022). The evolution of COVID-19 publications in pediatrics: a bibliometric analysis with research trends and global productivity: bibliometric analysis of COVID-19 publications in pediatrics. *Medical Science and Discovery*, 9(8), 421-431.
- Kosovalı, B. D., & Mutlu, N. M. (2023). Global scientific outputs of extracorporeal membrane oxygenation in COVID-19: A bibliometric overview. *Perfusion*, 38(6), 1153-1164.
- Lin, J., Zhou, J., & Xu, Y. (2023). Potential drug targets for multiple sclerosis identified through Mendelian randomization analysis. *Brain*, awad070.
- McGinley MP, Goldschmidt CH, Rae-Grant AD. (2021). Diagnosis and Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *JAMA*, 325(8):765–79. 10.1001/jama.2020.26858
- Olsson, T., Barcellos, L. F., & Alfredsson, L. (2017). Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology*, 13(1), 25-36.
- Peterson, S., Jalil, A., Beard, K., Kakara, M., & Sriwastava, S. (2022). Updates on efficacy and safety outcomes of new and emerging disease modifying therapies and stem cell therapy for Multiple Sclerosis: A review. *Mult Scler Relat Disord*, 68, 104125. doi:10.1016/j.msard.2022.104125
- Simkins TJ, Duncan GJ, Bourdette D. (2021). Chronic Demyelination and Axonal Degeneration in Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Therapeutic Implications. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 21(6):26. 10.1007/s11910-021-01110-5
- Thompson A.J., Baranzini S.E., Geurts J., et. al. (2018). Multiple Sclerosis. *Lancet Neurol*, 391: pp. 1622-1636.
- Van Eck, N. J., & Waltman, L. (2010). Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*, 84(2), 523-538. doi:10.1007/s11192-009-0146-3
- Walton, C., King, R., Rechtman, L., Kaye, W., Leray, E., Marrie, R. A., . . . Baneke, P. (2020). Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. *Mult Scler*, 26(14), 1816-1821. doi:10.1177/1352458520970841
- Yang, L., Tu, S., Feng, L., Lai, X., & Wang, R. (2021). Bibliometric analysis of multiple sclerosis nursing research based on Web of Science. *Ann Palliat Med*, 10(7), 7551-7559. doi:10.21037/apm-21-1057

Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Virus: From Genomic Insights to Control Strategies

Yonca KESKEK TURK^{1*}, Fatma Necmiye KACI¹

Highlights:

- Epidemiological trends of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHFV)
- Zoonotic reservoirs of CCHFV
- Public health implications

Keywords:

- Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHFV)
- Viral hemorrhagic fevers
- Tick-borne
- Zoonosis
- One health

ABSTRACT:

Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) is a life-threatening arthropod-borne virus transmitted by tick bites or contact with blood or tissues of viraemic individuals and animals. CCHFV continues its existence in a broad region with sporadic cases or outbreaks. CCHFV infection is observed frequently as an asymptomatic, but sudden severe disease characterised by haemorrhagic can occur. Diagnostic methods employ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Although ribavirin has been recommended in treatment besides supportive therapy approaches, no antiviral or vaccine for CCHF is currently approved. This review demonstrates general knowledge of CCHFV, summarising its molecular biology, pathogenesis, diagnosis, epidemiology, sustaining and transmission, treatment and prevention strategies, including vaccine candidates.

¹Yonca KESKEK TURK ([Orcid ID: 0000-0002-7955-086X](https://orcid.org/0000-0002-7955-086X)), Necmiye KACI ([Orcid ID: 0000-0003-3745-8173](https://orcid.org/0000-0003-3745-8173)), University of Leeds, Faculty of Medicine and Health, St. James's University Hospital, Leeds, United Kingdom

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Yonca KESKEK TURK, e-mail: yoncakeskek@gmail.com

INTRODUCTION

Diseases transmitted by arthropod vectors caused by parasites, bacteria, or viruses constitute over 17% of all infectious diseases, resulting in more than 700,000 deaths yearly (World Health Organization (WHO), 2020). This review focuses on one of the infectious diseases transmitted by arthropods, the Crimean–Congo haemorrhagic fever virus (CCHFV).

In 1944, the haemorrhagic fever disease was first defined in Crimea (Crimean haemorrhagic fever) (Watts et al., 2019). However, the initial isolation of the virus dates back to the 1960s in Congo (Simpson et al., 1967). Subsequent investigations unveiled that the virus responsible for these cases shared antigenic similarities with the pathogen that causes diseases in the Congo (Casals, 1969).

CCHFV, a virus transmitted predominantly by infected ticks (mainly of the *Hyalomma* genus) or through contact with the blood or other bodily fluids from an infected animal or individual, can induce haemorrhagic fever in humans. This disease presents a mortality rate that can reach 40% (Bente et al., 2013). While CCHFV can infect various wild and domestic animals, it typically induces viremia without causing apparent disease in these hosts. Consequently, these animal species play a crucial role as significant amplifying hosts. In human infections, CCHFV can lead to a spectrum of outcomes, ranging from asymptomatic or mild manifestations to fatal cases (Bente et al., 2013).

CCHFV is prevalent across Africa, the Middle East, Southeast Asia, and southern and eastern Europe, closely mirroring the distribution of its reservoir host, the *Hyalomma* tick (Messina et al., 2015). Furthermore, the range of *Hyalomma* ticks, specifically *Hy. marginatum* and *Hy. rufipes*, has extended as far north as Sweden (Grandi et al., 2020). Currently, there is no specific vaccine and therapeutics for CCHFV. Therefore, understanding CCHFV infection is vital for protecting public health, preventing outbreaks, getting knowledge of its pathogenesis, and developing diagnosis, treatment, and prevention strategies.

Genome and Structure

Crimean–Congo Haemorrhagic Fever virus (CCHFV), tri-segmented (-) ssRNA, belongs to the genus *Orthonairovirus* (family *Nairoviridae*, order *Bunyavirales*) (Garrison et al., 2020).

The small (S) segment is responsible for encoding the nucleoprotein (NP) and the non-structural S (NSs), the medium (M) segment encodes the glycoprotein precursor (GPC), giving rise to mature Gn and Gc glycoproteins, along with three non-structural proteins; mucin like protein/domain (MLD), GP38, and NSm. The large (L) segment carries the genetic code for the L protein, which includes the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) responsible for viral RNA synthesis (Zivcec et al., 2016) (Figure 1). In addition, the virus contains an ovarian tumour (OTU) protease domain, which may contribute to its evasion of host innate immune responses (Tchesnokov et al., 2020). However, the virus replication was determined not to be reliant on the protease activity of OTU (Bergeron et al., 2010).

The CCHFV NSs protein is likely to trigger apoptosis by activating both the intrinsic (mitochondrial death pathway) and extrinsic (the death receptor pathway) pathways during infection (Barnwal et al., 2016). Gn and Gc are incorporated into the virion's membrane, where they facilitate cellular attachment and entry (Whitehouse, 2004). Additionally, Gn is believed to be involved in the assembly of the virion (Estrada & De Guzman, 2011). GP38, alongside the MLD (also known as GP85), is involved in processing and directing the movement of structural glycoproteins, playing a crucial role in viral replication. NSm (GP160) has been implicated in the processing of Gc but is not essential for viral replication (Freitas et al., Hulswit et al., 2021). Due to its high contagion and ability

to induce severe illness, the virus should be exclusively managed in high-containment (BSL-4) laboratories (Weidmann et al., 2016).

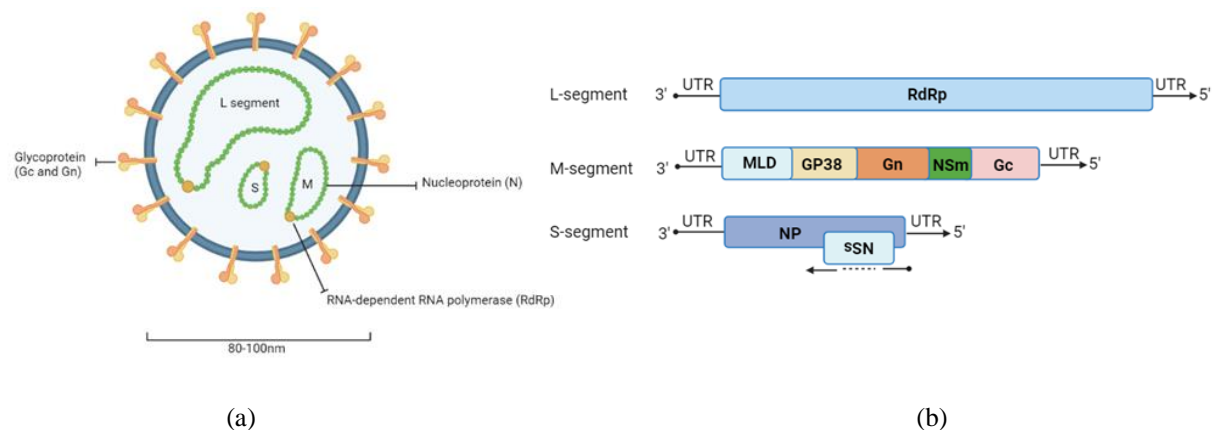


Figure 1: Diagram illustrating the CCHFV virion (a) and the CCHFV genome structure (b) The figure was created with BioRender.com)

Clinical Manifestations

Initial manifestations of CCHFV infections appear as a non-specific febrile illness (Bente et al., 2013), with over 80% of infections estimated to be subclinical (Ergonul, 2008). Human infection with CCHFV is marked by four noticeable phases: incubation, pre-haemorrhagic, haemorrhagic, and convalescence (Hoogstraal, 1979).

The shortest incubation period occurs after a tick bite, typically within 1–3 days, while exposure to infected livestock and human blood, tissue, and secretions results in a slightly more extended incubation period of 5–6 days (Vorou et al., 2007), during which the virus replicates and disseminates.

The pre-haemorrhagic phase can last up to one week. This stage typically initiates symptoms including fever (ranging from 39 to 41 °C), headache, myalgia, dizziness, neck pain, stiffness and photophobia (Vorou et al., 2007). Extra symptoms such as abdominal pain, nausea, vomiting and diarrhoea might be observed. Noteworthy, CCHFV infection led to neuropsychiatric changes, including abrupt mood changes, along with feelings of confusion and agitation individuals (Whitehouse, 2004). In this phase, viremia reaches its peak, and reverse transcription-PCR (RT-PCR) can be employed to define the circulating virus and the virus isolation is also feasible (Drosten et al., 2002; Drosten et al., 2003).

Haemorrhage usually begins 3-6 days after the initiation of symptoms appear. Haemorrhagic symptoms may manifest, varying from small red or purple skin spots (petechial) caused by bleeding from ruptured capillaries, nosebleeds (epistaxis), and bruising (ecchymosis) at injection sites to substantial bleeding from different bodily systems (Ergonul et al., 2006). Bleeding has also been reported in the genital-urinary tract and brain (Whitehouse, 2004). Elevated levels of liver enzymes, creatinine phosphokinase, and lactate dehydrogenase, along with prolonged bleeding markers (thrombocytopenia, leukopenia) are observed. In the most severe instances, fatalities are linked to cerebral and profound gastrointestinal haemorrhage, as well as kidney, liver, or pulmonary failure, along with the shock (Hawman & Feldmann, 2023). Mortality is linked to various factors, including age, viral strain, viral load and endemic conditions (Leblebicioglu, 2010; Stähelin-Massik et al., 2008; Tezer et al., 2010).

Survivors of CCHFV infection typically undergo a convalescence period lasting approximately 9-20 days. While some transient symptoms like weakness, tachycardia or bradycardia, and hair loss may manifest during the recovery phase, they are generally temporary (Hawman & Feldmann, 2023).

Individuals who survive usually acquire both humoral and cellular immunity to combat CCHFV (Fels et al., 2022; Goedhals et al., 2017).

Diagnosis

CCHF suspected cases are assessed by considering clinical symptoms (e.g., observations of skin and mucosal bleeding), patient history (e.g., a history of tick attachment), and diagnostic laboratory tests (e.g., finding of virus RNA). Differential diagnosis for CCHFV should be considered if the cases happen in the endemic region for other viral haemorrhagic fevers (VHFs) such as Hantavirus pulmonary syndrome (Onder Ergonul, 2012).

The disease's extensive geographic spread and rising incidence in new regions have elevated CCHF to a public health emergency. Swift diagnosis is crucial for effective patient care, particularly in rural and remote areas where most cases occur. The World Health Organization (WHO) has designated CCHF as a priority disease for research and development, specifically focusing on advancements in diagnosis, prevention, and control measures (World Health Organization (WHO), 2022a). The importance of early patient identification is underscored by the inverse relationship between mortality rates and patients' accessibility to healthcare services (Komut et al., 2023).

Direct diagnosis approaches involve the detection of the viral RNA and virus isolation, but the latter requires a biosafety level 4 (BSL-4) (Onder Ergonul, 2012).

PCR-based molecular methods can be chosen for rapid laboratory diagnosis of CCHF virus infection (Drosten et al., 2003). The approach is highly sensitive for identifying a viral genome and potentially quantifying the viral load in a sample within a short timeframe (Schwarz et al., 1996). Over the past years, various PCR systems have been established to diagnose the CCHFV (Albayrak et al., 2012; Drosten et al., 2002, 2003; Duh et al., 2006; Kamboj et al., 2014). Although PCR-based diagnostic system provides quick, definite diagnosis, a limitation of these tests is the extremely narrow diagnostic window. PCR outcomes might yield negative results if the sample is collected beyond nine days post-symptom onset (Fillâtre, Revest, & Tattevin, 2019). Furthermore, due to the intricacy and expense associated with RT-PCR platforms and PCR kits, there has been extensive development of isothermal nucleic acid amplification assays, particularly loop-mediated isothermal amplification (LAMP). LAMP enables the process to occur at a consistent temperature (60-65°C) for a short duration, eliminating the necessity for a thermal cycler (Hema & Konakalla, 2021). This makes LAMP particularly suitable for applications in the field and point-of-care diagnostics. The integration of LAMP with a reverse transcription step, facilitating the detection of RNA, led to the establishment of LAMP with reverse transcription (RT-LAMP) for the detection of CCHFV (Febrer-Sendra et al., 2023).

Similar to other isothermal amplification methods, isothermal recombinase polymerase amplification (RPA) eliminates the need for a thermal cycler, as the reaction occurs at a constant temperature. This assay was effectively designed for the molecular detection of CCHFV (Bonney et al., 2017).

Serological techniques detect virus-specific IgG and IgM antibodies, including immunofluorescence, hemagglutination inhibition, complement fixation, and ELISA. Typically, these offer a prolonged diagnostic timeframe, spanning from the haemorrhagic phase of CCHF to the recovery period (Fillâtre et al., 2019). There are commercially accessible kits for identifying human IgM and IgG CCHFV-specific antibodies, involving enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) indirect immunofluorescence tests (IIFTs) (Emmerich et al., 2021). The IgM tests primarily diagnose acute infections, while IgG tests are used for detecting advanced disease stages and for

epidemiological and disease surveillance purposes (Schluederberg, 1965). Furthermore, the recombinant nucleoprotein (NP) of the CCHFV has proven to be an effective antigen for the diagnosis of CCHFV in ELISA and immunofluorescence assays (Dowall et al., 2012; Emmerich et al., 2018; Saijo et al., 2005; Tang et al., 2003).

In addition to these systems, aptamer-based diagnostics have recently attracted attention as highly sensitive, specific, and rapid (Moshref et al., 2023). In one study, diagnosis of CCHFV infection was shown using specific aptamer-antibody ELISA for CCHFV NP protein. The choice of the NP protein for this assay is based on its superior stability across various strains of the CCHFV, its status as the primary protein of the virus, inducing a high immune response and its abundance as the most readily detectable antigen in CCHFV positive sera (Jalali et al., 2021; Liu et al., 2014).

Epidemiology

CCHF exhibits endemicity in regions situated south of the 50th north parallel latitude, encompassing Africa, the Balkans, the Middle East, and Asia (Bente et al., 2013) (Figure 2), with over 30 countries documenting cases since its initial emergence in Crimea (Blair et al., 2019; Hoogstraal, 1979; Spiropoulou & Bente, 2020). Endemic foci are present in all regions except Western Hemisphere, northern Europe and Australia. CCHF manifests in established geographic areas and adheres to a predictable seasonal trend, typically reaching a maximum of 1000 cases annually per nation (World Health Organization (WHO), 2018).

Over the years, the epidemiology of CCHFV has undergone dynamic changes, with sporadic outbreaks, localized endemicity, and the emergence of new cases reported in various countries (García Rada, 2016).

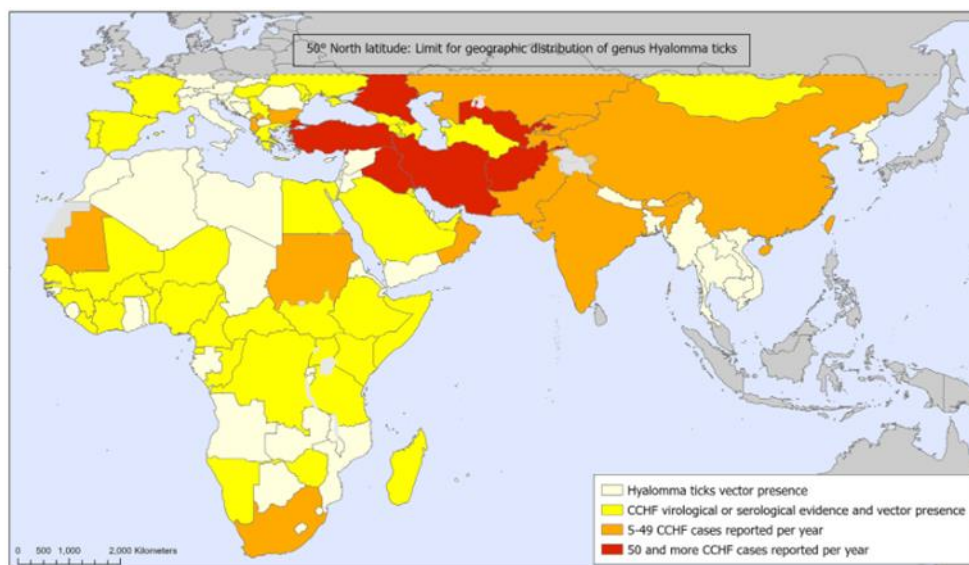


Figure 2: Worldwide map of the CCHF distribution, adapted from (World Health Organization (WHO), 2022b)

The following outlines the brief epidemiology of CCHF across three geographical areas: Africa, the Middle East and Europe.

Africa

While CCHF was first documented in Africa in 1956 (Simpson et al., 1967), publications and reports on CCHF epidemiology in Africa are scarce. However, since 2000, nine countries, namely Kenya, Mali, Mozambique, Nigeria, Senegal, Sierra Leone, South Sudan, Sudan, and Tunisia, have recorded their initial CCHF cases (Omoga et al., 2023 Temur et al., 2021). The reported cases directly correlate with improving diagnostic capabilities in these countries. Notably, South Africa has reported

the most substantial caseload on the continent, with 215 cases documented from 1981 to 2019 (Grard et al., 2011; Temur et al., 2021). This discrepancy in reported cases reflects variations in diagnostic capacities among African nations, emphasizing the importance of a thorough comprehension of CCHFV cases in humans, animals, and vector circulation across countries.

The Middle East

The presence of CCHF in Iran, Afghanistan, Pakistan, Iraq, United Arab Emirates, Tunisia, Oman, and Saudi Arabia has been documented. Iran has been consistently identified cases of either nosocomial infections or tick bites of CCHF annually, primarily in the south-eastern region (Chinikar et al., 2012, 2013). After first report in 1998, Afghanistan faced the first multifocal outbreak in 2008 (Mofleh & Ahmad, 2012) and a seroprevalence study illustrated that the incidence was high in livestock population (75%) and 11.2% of humans (Mustafa et al., 2011). In Iraq, nosocomial transmission plays a role in both sporadic cases and outbreaks (Ibrahim et al., 2014).

Seroprevalence studies showed CCHFV antibodies in the sera of humans and various animals in the United Arab Emirates (Khan et al., 1997). Exposure to CCHFV was observed in humans (approximately 8%) (Wasfi et al., 2016) and camels (89.7%) (Bouaicha et al., 2021) in Tunisia. In Oman, a heightened prevalence of CCHFV antibodies was observed in diverse animals and ticks: cattle, camels, goats, sheep, and ticks, 17.5%, 15.7%, 4.8%, 4.3%, and 5.1%, respectively. (Body et al., 2016). From 2011 to 2017, there was a steady increase in human cases of CCHFV infections, with the primary risk factor being contact with animals (Al-Abri et al., 2019).

Regarding sporadic cases and outbreaks, the circulation of CCHFV is evident in the region.

Europe

In Europe, particularly in the Balkan Peninsula, there have been reports of outbreaks as well as sporadic or imported cases of CCHF. In Bulgaria, in southeastern Europe, CCHF was defined initially within its borders in 1952 (Nekliudov, 1952). Bulgaria recorded over 1500 diagnosed cases of CCHF from 1953 to 2000s (Papa et al., 2004). Since the initial case in 1954 in Kosovo, there has been a persistent reporting of outbreaks (Ahmeti et al., 2019; Vesenjok-Hirjan et al., 1991).

In 1975, the CCHFV strain (AP92) was isolated from ticks of the *Rhipicephalus bursa* species, which were gathered from goats in Northern Greece (Papadopoulos & Koptopoulos, 1980) and revealed that the AP92 strain is distinct from all other strains of CCHFV (Vorou et al., 2007). Although different seroprevalence studies showed AP92 CCHFV strain circulation in the population, it does not cause severe illness in humans (Antoniadis et al., 1991; Sargianou et al., 2013). Notably, the initial domestic CCHF case documented in Greece in 2008 (Maltezou et al., 2009), and this CCHFV infection was fatal. Moreover, molecular analysis showed that the causative strain (Rhodopi) differs genetically from the AP92 strain (Papa et al., 2011).

In 2010, evidence of CCHFV circulation was identified in ticks of the genus *Hyalomma* collected from deer in Spain (Estrada-Peña et al., 2012). Later on, two autochthonous cases (fatal and non-fatal) were addressed in the country (García Rada, 2016; Negrodo et al., 2017). In asymptomatic blood donors from Spain, there were between 0.58% (3/516) and 1.16% (6/516) IgG antibodies against CCHFV (Arteaga et al., 2020).

Interestingly, while no human cases have been reported thus far, infected *H. marginatum* ticks have been found on cattle and horses in southern France (Bernard et al., 2024). Additionally, antibodies against the virus were detected in ruminant sera in Corsica, a French island (Bernard et al., 2022).

Serological evidence of CCHFV in Türkiye dates back to 1975, the initial officially confirmed CCHF case in the north of Türkiye was documented in 2002 (Karti et al., 2004; Pattyn, 1978). Following, cases with comparable clinical and laboratory manifestations were documented in Tokat and its surrounding municipalities (Shahhosseini et al., 2021). These regions provide favourable habitats for tick species, vectors of CCHFV (Leblebicioglu et al., 2016). From 2002 to 2007, Turkish hospitals, mainly in the Middle and Eastern Anatolia of Türkiye, recorded 1820 confirmed cases with a mortality rate of 5% (range 4.5–6.2%) (Ozkaya et al., 2010). From 2002 onward, over 9,000 verified cases have been noted, resulting in a mortality rate of 5% (Shahhosseini et al., 2021). Apart from clinical cases, a serosurvey study brought attention to a significant proportion of subclinical CCHFV infections in the epidemic hotspots (Bodur et al., 2012).

Given that CCHF cases have predominantly been recorded in the Balkan Peninsula and Türkiye, there exists a potential for this virus to emerge as an infectious threat across the rest of Europe influenced by various factors, including climate change.

Sustaining and Transmission of CCHFV

Vectors of cchfv

Ticks are blood-feeding arthropods, and there are approximately 900 species classified into medically important tick families: the Argasidae and the Ixodidae (Guglielmone et al., 2010). *Hyalomma* ticks, members of the Ixodidae family, serve as vectors and reservoir for CCHFV (Spengler et al., 2016; Whitehouse, 2004). Even though CCHFV has been identified in at least 35 tick species (Shahhosseini et al., 2021), which includes soft ticks from the Argasidae family, the role of these ticks should be evaluated within the framework of their vector capacity (Gargili et al., 2017). Vector competence applies to the ability of ticks to be infected via feeding on an infected host, maintaining, replicating, and transmitting the virus (Papa et al., 2017).

Ixodid ticks progress through three active stages in their life cycle: larva, nymph, and adult (Bonnet et al., 2023). Most ticks of the *Hyalomma* spp possess a three-host cycle that involves each of the three life stages seeking a new host to obtain a blood meal, but some exhibit two-host behaviour, with larvae and nymphs feeding on the same host (Bonnet et al., 2023). Larvae hatch, feed, moult to nymphs while attached to the host, and then drop to the ground for further development. Adults, resulting from this process, find a host, feed, mate, and lay eggs in protected sites with high humidity. Each blood meal integrates ticks into the CCHFV transmission cycle through transstadial or transovarial transmission. Transmission occurs between ticks and mammals or through co-feeding ticks. Human infection can result from the bite of an infected tick or exposure to the body fluids of a viraemic animal or CCHF patient (Bente et al., 2013).

Medically important ticks typically take a blood meal from small mammals and birds during their immature stages, while adults feed on larger herbivores and carnivores. This diverse feeding behaviour allows ticks to acquire pathogens from various vertebrate hosts and subsequently transmit them to humans. Human exposure to ticks, often characterized by generalist host behaviour, increases the risk of pathogen transmission (Salim Abadi et al., 2010).

Vertebrate hosts of cchfv

CCHFV is widespread in both wild and domestic animals, and importantly, CCHFV infection without apparent symptoms has been documented in these species (Spengler et al., 2016). CCHFV has been isolated from domestic animals (e.g., horses, livestock, chickens, dogs, camels), small mammals (e.g., hedgehogs, rabbits) and large mammals (e.g., buffalos, rhinoceroses, giraffes, deer) (Espunyes et al., 2021; Spengler, Bergeron, et al., 2016; Whitehouse, 2004).

Notably, higher seropositivity of CCHFV antibodies in domestic animals increases the risk of human infection. As such, higher levels of CCHFV IgG antibodies in livestock frequently align with occurrences of CCHF cases in individuals engaged in the livestock sector, such as butchers and farmers (Mustafa et al., 2011; Sharifi-Mood et al., 2014). Moreover, the recent seroprevalence study highlighted the high CCHFV seropositivity in camels, 97% (179/184), in an abattoir in Nigeria (Adamu et al., 2024).

Most bird species are likely resistant to CCHFV infection, but antibodies against CCHFV have been detected in ostriches and exhibited viremia after experimental infection (Cooper et al., 2004). Migrating birds play a crucial role in transmitting diseases by providing blood meals to ticks, thereby aiding the spread of infected ticks and the emergence of disease hotspots. For instance, the potential entry route of CCHFV into Spain is believed to involve migratory birds transporting immature forms of infected ticks from Africa (Palomar et al., 2013). Nevertheless, the virus has been detected in only a minor percentage (0% to 3.2%) of ticks in Spain (Spengler et al., 2018).

Treatment Strategies

The majority of CCHFV infections either manifest as asymptomatic or lead to a non-specific febrile illness, typically not necessitating hospitalization or targeted treatment. In rare instances where patients experience life-threatening outcomes of the infection, such as haemorrhage, the existing medical approach primarily revolves around providing supportive care. There is currently no specific approved antiviral treatment or vaccine for CCHF. Patients are often given intravenous fluids to maintain hydration, pain relievers for fever and discomfort, and other supportive measures to address specific symptoms, closely monitoring the patient's hematologic status and involves the administration of thrombocytes, fresh frozen plasma, and erythrocyte preparations (Ergönül, 2006; Fillâtre et al., 2019).

Ribavirin, a nucleoside analogue that interferes with the replication of viruses, including RNA viruses such as respiratory syncytial virus and Lassa virus, is the only therapeutic agent for the CCHF treatment recommended by the WHO (Graci & Cameron, 2006; World Health Organization (WHO), 2022b). It is available in both oral and intravenous formulations (Johnson et al., 2018). Ribavirin inhibits viral replication in Vero cells (Watts et al., 1989) and reduces the average time to mortality in a suckling mouse model of CCHF (Tignor & Hanham, 1993). Retrospective studies in Türkiye and Iran indicated a lower mortality rate, but ongoing research and clinical evaluation are still discussing its effectiveness (D'Addiego et al., 2023; Ergönül et al., 2004; Mardani et al., 2003). WHO suggests a dosage of 17 mg/kg (up to a maximum dose of 1 g) every 6 hours from day 1 to day 4. Subsequently, the recommended dosage is 8 mg/kg (up to a maximum dose of 500 mg) every 8 hours from day 5 to day 10 (Fillâtre et al., 2019). Additionally, a meta-analysis suggested that administering ribavirin as a prophylactic post-exposure treatment in health workers reduces the risk of infection (Ergönül et al., 2018).

Favipiravir, a broad-spectrum viral polymerase inhibitor, has shown effectiveness against several pathogenic RNA viruses, including Lassa fever (Rosenke et al., 2018; Safronetz et al., 2015). Studies on CCHFV in mice demonstrated that Favipiravir effectively suppressed viral replication and prevented mortality, even when administered late after the onset of symptoms. These findings suggest that Favipiravir may have potential efficacy in treating advanced cases of CCHF (Hawman et al., 2018; Oestereich et al., 2014).

Besides these, alternative therapeutic options reported in individual cases or experiment results include steroids, convalescent serum, monoclonal antibodies, and specific immunoglobulins, including

hyperimmune globulins derived from the serum of recovered patients (Bertolotti-Ciarlet et al., 2005; Keshtkar-Jahromi et al., 2011; Kubar et al., 2011). However, there is inadequate evidence to evaluate the effectiveness of these treatments.

Prevention and Control

Developing preventative measures and vaccines to protect against infection is of great importance, particularly critical in regions where the virus is endemic or emerging to mitigate its impact on public health (Fletcher et al., 2017; Hawman & Feldmann, 2023).

The most effective approach to preventing the disease is to steer clear of or reduce exposure to the virus, and there are several ways to achieve this. Individuals in high-risk professions (e.g., veterinarians, farmers, slaughterhouse workers, etc.) should utilize suitable attire, including long sleeves, pants and socks to cover ankles.

Furthermore, the spread of CCHF in hospitals can be restricted by employing appropriate personal protective equipment (PPE). Standard barrier PPE, including a lab gown, gloves, a face shield, and a mask, reduces the risk of healthcare personnel coming into contact with potentially infectious bodily fluids (Ergönül, 2006). Further, trained personnel in adequately equipped laboratories should manage samples collected from individuals suspected of having CCHF (Bartolini et al., 2019). Needle stick injuries and exposure to mucous membranes through splashes were common causes of high-risk nosocomial infections among healthcare personnel and several cases reported from different countries (Burney et al., 1980; Conger et al., 2015; Leblebicioglu et al., 2016).

It is also essential to manage the tick population, particularly *Hyalomma* ticks, in the context of prevention and control of CCHF infections. Various methods, such as chemical, biological, genetic, and ecological approaches, have been developed for tick control. The deployment of acaricides is recommended on farms and livestock, as well as using approved repellent on the skin and clothing (Bonnet et al., 2022; Kumar et al., 2020).

Moreover, anti-tick vaccines, implemented in livestock populations and focusing on the vector, offer a dual advantage by addressing both the ticks and the life cycle of CCHFV (de la Fuente & Contreras, 2022). Additionally, regular examination and quarantine measures for livestock that may carry CCHFV or harbour CCHFV-infected ticks, conducted before transportation or slaughter, can decrease exposure and restrict the introduction of CCHFV to new regions (Hawman & Feldmann, 2023).

In the absence of a vaccine, the primary approach to reducing CCHFV infection in humans is through public health-focused educational campaigns. These campaigns should highlight information on the CCHFV and its tick vectors, transmission routes, using suitable repellents, recognition of the disease's clinical signs, and the importance of admission to a hospital as soon as possible after suspicion. Thus, health-focused educational initiatives can raise awareness regarding the risk factors and prevention of CCHFV infection. Recognizing the significance of the infection also increases the likelihood of successful recovery when individuals with early symptoms of CCHF seek admission to a hospital (Hawman & Feldmann, 2023).

Vaccines

The extensive spread of CCHFV, the risk of person-to-person transmission, the severity of the disease, and the high fatality rate, coupled with challenges in treatment, collectively establish CCHF as a significant public health issue. In addition to this, there are numerous vaccine potential candidates,

but none has received official approval (Ahata & Akçapınar, 2023). Having a vaccine against CCHFV benefits individuals residing in endemic areas and engaging in activities such as working with livestock or agriculture, where the risk of infection is higher (Tipih & Burt, 2020).

In 1974, Bulgaria pioneered the development of an inactivated vaccine derived from suckling mouse brains, which was administered to several hundred human volunteers, predominantly in the military and medical personnel. Although this vaccine is still in use on a small scale in Eastern Europe and has demonstrated elevated antibody levels, its limited adoption and lack of official recognition for use in other countries highlight the need for further evaluation (Papa et al., 2011). Moreover, it has been shown that the vaccine triggered both cellular and humoral responses to CCHFV. However, the levels of neutralising antibodies were low, even among individuals who had received up to four doses (Mousavi-Jazi et al., 2012).

Indeed, it is important to note that there is currently no officially approved and widely available vaccine for human or animal use; however, several experimental vaccine candidates exist (Garrison et al., 2017; Hawman et al., 2021), plant-expressed vaccines, transgenic tobacco leaves expressing the CCHFV viral glycoproteins (Ghiasi et al., 2011), and recently mRNA-based vaccine efficacy against CCHFV has been highlighted in various studies (reviewed in detail in refs. Ahata & Akçapınar, 2023; Ozdarendeli, 2023; Tipih & Burt, 2020).

CONCLUSION

In conclusion, this thorough investigation of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever provides insights into its genome, molecular characteristics, epidemiology, and pathogenesis. The discussion encompassed the virus's transmission dynamics, the crucial role of ticks in its life cycle, and the significant impact of various host species on its circulation. The review delved into diagnostic techniques, emphasizing the importance of accurate and rapid detection methods for effective management.

Furthermore, insights into the global distribution of CCHFV underscore its endemicity in various regions, prompting the necessity for region-specific preventive measures. The evaluation of vaccination strategies, antiviral treatments, and the importance of public health interventions emphasized the need for a multifaceted approach to combat CCHF. This review serves as a foundation for future endeavours, urging the scientific community to remain vigilant and proactive in the face of emerging infectious threats like CCHFV.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the editor and referee/referees for their contributions to the review and evaluation phase of the article.

Conflict of Interest

The article author declares that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Adamu, A. M., Onoja, A. B., Ugboodu, V. E., Bala, R. S., Maina, M., Salisu, U. S., ... Adegboye, O. (2024). Investigating Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Virus Seropositivity in Camels and Human Behavioural Risks in an Abattoir in Nigeria. *Epidemiology and Infection*, *1*, 1–8. <https://doi.org/10.1017/S0950268824000189>

- Ahata, B., & Akçapınar, G. B. (2023). CCHFV vaccine development, current challenges, limitations, and future directions. *Frontiers in Immunology*, *14*(September), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1238882>
- Ahmeti, S., Berisha, L., Halili, B., Ahmeti, F., von Possel, R., Thomé-Bolduan, C., ... Emmerich, P. (2019). Crimean-congo hemorrhagic fever, Kosovo, 2013–2016. *Emerging Infectious Diseases*, *25*(2), 321–324. <https://doi.org/10.3201/eid2502.171999>
- Akuffo, R., Brandful, J. A. M., Zayed, A., Adjei, A., Watany, N., Fahmy, N. T., ... Dueger, E. (2016). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in livestock ticks and animal handler seroprevalence at an abattoir in Ghana. *BMC Infectious Diseases*, *16*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1660-6>
- Al-Abri, S. S., Hewson, R., Al-Kindi, H., Al-Abaidani, I., Al-Jardani, A., Al-Maani, A., ... Beeching, N. J. (2019). Clinical and molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Oman. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *13*(4), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007100>
- Albayrak, H., Ozan, E., & Kurt, M. (2012). Serosurvey and molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) in northern Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, *44*(7), 1667–1671. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0122-4>
- Antoniadis, A., Alexiou-Daniel, S., Malissiovas, N., Doutsos, J., Polyzoni, T., LeDue, J. W., ... Saviolakis, G. (1991). Seroepidemiological survey for antibodies to arboviruses in Greece. *Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Tick-and Mosquito-Borne Viruses*, 277–285. Springer.
- Arteaga, L. M., Bellido, J. L. M., Lista, M. C. V., Santiago, M. B. V., Soto, P. F., Bas, I., ... Muro, A. (2020). Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus-specific antibody detection in blood donors, Castile-León, Spain, summer 2017 and 2018. *Eurosurveillance*, *25*(10), 1–7. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.1900507>
- Atwan, Z., Alhilfi, R., Mousa, A. K., Rawaf, S., Torre, J. D. L., Hashim, A. R., ... Tabche, C. (2024). Alarming update on incidence of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iraq in 2023. *IJID Regions*, *10*(November 2023), 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2023.11.018>
- Barnwal, B., Karlberg, H., Mirazimi, A., & Tan, Y. J. (2016). The non-structural protein of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus disrupts the mitochondrial membrane potential and induces apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, *291*(2), 582–592. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.667436>
- Bartolini, B., Gruber, C. E. M., Koopmans, M., Avšič, T., Bino, S., Christova, I., ... Di Caro, A. (2019). Laboratory management of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infections: Perspectives from two European networks. *Eurosurveillance*, *24*(5), 1–14. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.5.1800093>
- Bente, D. A., Forrester, N. L., Watts, D. M., McAuley, A. J., Whitehouse, C. A., & Bray, M. (2013). Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Research*, *100*(1), 159–189. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.07.006>
- Bergeron, É., Albariño, C. G., Khristova, M. L., & Nichol, S. T. (2010). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus-Encoded Ovarian Tumor Protease Activity Is Dispensable for Virus RNA Polymerase Function. *Journal of Virology*, *84*(1), 216–226. <https://doi.org/10.1128/jvi.01859-09>
- Bernard, C., Holzmüller, P., Bah, M. T., Bastien, M., Combes, B., Jori, F., ... Vial, L. (2022). Systematic Review on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Enzootic Cycle and Factors Favoring Virus Transmission: Special Focus on France, an Apparently Free-Disease Area in Europe. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*(July), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.932304>
- Bernard, C., Joly Kukla, C., Rakotoarivony, I., Duhayon, M., Stachurski, F., Huber, K., ... Vial, L. (2024). Detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in *Hyalomma marginatum* ticks, southern France, May 2022 and April 2023. *Euro Surveillances: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, *29*(6), 1–6. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.6.2400023>
- Bertolotti-Ciarlet, A., Smith, J., Strecker, K., Paragas, J., Altamura, L. A., McFalls, J. M., ... Doms, R. W. (2005). Cellular Localization and Antigenic Characterization of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Glycoproteins. *Journal of Virology*, *79*(10), 6152–6161. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.10.6152-6161.2005>
- Blair, P. W., Kuhn, J. H., Pecor, D. B., Apanaskevich, D. A., Kortepeter, M. G., Cardile, A. P., ... Keshtkar-Jahromi, M. (2019). An emerging biothreat: Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in southern and western Asia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *100*(1), 16–23. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0553>

- Bodur, H., Akinci, E., Ascioğlu, S., Öngürü, P., & Uyar, Y. (2012). Subclinical infections with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Turkey. *Emerging Infectious Diseases*, 18(4), 640–642. <https://doi.org/10.3201/eid1804.111374>
- Body, M. H. H., Abdulmajeed, H. Al., Hammad, M. H., Mohamed, S. A., Saif, S. Alh., Salim, A.-M., ... Rajamony, S. (2016). Cross-sectional survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the sultanate of Oman. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 8(6), 44–49.
- Bonnet, S. I., Bertagnoli, S., Falchi, A., Figoni, J., Fite, J., Hoch, T., ... Vial, L. (2023). An Update of Evidence for Pathogen Transmission by Ticks of the Genus Hyalomma. *Pathogens*, 12(4), 1–19. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040513>
- Bonnet, S. I., Vourc'h, G., Raffetin, A., Falchi, A., Figoni, J., Fite, J., ... Quillery, E. (2022). The control of Hyalomma ticks, vectors of the Crimean–Congo hemorrhagic fever virus: Where are we now and where are we going? *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(11), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010846>
- Bonney, L. C., Watson, R. J., Afrough, B., Mullojonova, M., Dzhuraeva, V., Tishkova, F., & Hewson, R. (2017). A recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of Crimean-Congo Haemorrhagic fever Virus infection. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(10), e0006013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006013>
- Bouaicha, F., Eisenbarth, A., Elati, K., Schulz, A., Ben Smida, B., Bouajila, M., ... Khamassi Khbou, M. (2021). Epidemiological investigation of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection among the one-humped camels (*Camelus dromedarius*) in southern Tunisia. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(1). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101601>
- Burney, M. I., Ghafoor, A., Webb, P. A., Saleen, M., & Casals, J. (1980). Nosocomial Outbreak of Viral Hemorrhagic Fever Caused by Crimean Hemorrhagic Fever-Congo Virus in Pakistan, January 1976 *. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29(5), 941–947. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1980.29.941>
- Burt, F. J., Leman, P. A., Smith, J. F., & Swanepoel, R. (1998). The use of a reverse transcription-polymerase chain reaction for the detection of viral nucleic acid in the diagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Journal of Virological Methods*, 70(2), 129–137. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(97\)00182-1](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(97)00182-1)
- Casals, J. (1969). Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 131(1), 233–236. <https://doi.org/https://doi.org/10.3181/00379727-131-33847>
- Chinikar, S., Ghiasi, S. M., Naddaf, S., Piazak, N., Moradi, M., Razavi, M. R., ... Atefi, B. (2012). Serological evaluation of Crimean-Congo hemorrhagic fever in humans with high-risk professions living in enzootic regions of Isfahan Province of Iran and genetic analysis of circulating strains. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(9), 733–738.
- Chinikar, S., Shayesteh, M., Khakifirouz, S., Jalali, T., Rasi Varaie, F. S., Rafigh, M., ... Shah-Hosseini, N. (2013). Nosocomial infection of Crimean-Congo haemorrhagic fever in eastern Iran: Case report. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 11(4), 252–255. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2012.11.009>
- Conger, N. G., Paolino, K. M., Osborn, E. C., Rusnak, J. M., Günther, S., Pool, J., ... Rieger, T. (2015). Health care response to CCHF in US soldier and nosocomial transmission to health care providers, Germany, 2009. *Emerging Infectious Diseases*, 21(1), 23.
- Cooper, R. G., Horbanczuk, J. O., & Fujihara, N. (2004). Viral diseases of the Ostrich (*Struthio camelus* var. domesticus). *Animal Science Journal*, 75(2), 89–95. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2004.00161.x>
- D'Addiego, J., Elaldi, N., Wand, N., Osman, K., Bagci, B. K., Kennedy, E., ... Hewson, R. (2023). Investigating the effect of ribavirin treatment on genetic mutations in Crimean–Congo haemorrhagic fever virus (CCHFV) through next-generation sequencing. *Journal of Medical Virology*, 95(2). <https://doi.org/10.1002/jmv.28548>
- de la Fuente, J., & Contreras, M. (2022). Additional considerations for anti-tick vaccine research. *Expert Review of Vaccines*, 21(8), 1019–1021. <https://doi.org/10.1080/14760584.2022.2071704>
- Dowall, S. D., Richards, K. S., Graham, V. A., Chamberlain, J., & Hewson, R. (2012). Development of an indirect ELISA method for the parallel measurement of IgG and IgM antibodies against Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus using recombinant nucleoprotein as antigen. *Journal of Virological Methods*, 179(2), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.11.020>
- Drosten, C., Götting, S., Schilling, S., Asper, M., Panning, M., Schmitz, H., & Günther, S. (2002). Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus,

- Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(7), 2323–2330. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.7.2323-2330.2002>
- Drosten, C., Kümmeler, B. M., Schmitz, H., & Günther, S. (2003). Molecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral Research*, 57(1–2), 61–87. [https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(02\)00201-2](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(02)00201-2)
- Duh, D., Saksida, A., Petrovec, M., Dedushaj, I., & Avšič-Županc, T. (2006). Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *Journal of Virological Methods*, 133(2), 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.11.006>
- Emmerich, P., Mika, A., von Possel, R., Rackow, A., Liu, Y., Schmitz, H., ... Deschermeier, C. (2018). Sensitive and specific detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV)—Specific IgM and IgG antibodies in human sera using recombinant CCHFV nucleoprotein as antigen in μ -capture and IgG immune complex (IC) ELISA tests. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(3), 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006366>
- Emmerich, P., von Possel, R., Deschermeier, C., Ahmeti, S., Berisha, L., Halili, B., ... Borchardt-Lohölter, V. (2021). Comparison of diagnostic performances of ten different immunoassays detecting anti-CCHFVIgM and IgG antibodies from acute to subsided phases of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(3), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009280>
- Ergönül, Ö. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever. *The Lancet Infectious Diseases*, 6(4), 203–214. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70435-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70435-2)
- Ergonul, O., Celikbas, A., Baykam, N., Eren, S., & Dokuzoguz, B. (2006). Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(6), 551–554. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01445.x>
- Ergönül, Ö., Çelikbaş, A., Dokuzoğuz, B., Eren, Ş., Baykam, N., & Esener, H. (2004). Characteristics of patients with crimean-congo heniorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 39(2), 284–287. <https://doi.org/10.1086/422000>
- Ergönül, Ö., Keske, Ş., Çeldir, M. G., Kara, İ. A., Pshenichnaya, N., Abuova, G., ... Gönen, M. (2018). Systematic review and meta-analysis of postexposure prophylaxis for crimean-congo hemorrhagic fever virus among healthcare workers. *Emerging Infectious Diseases*, 24(9), 1642–1648. <https://doi.org/10.3201/eid2409.171709>
- Ergonul, Onder. (2008). Treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 78(1), 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2007.11.002>
- Ergonul, Onder. (2012). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: New outbreaks, new discoveries. *Current Opinion in Virology*, 2(2), 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.03.001>
- Espunyes, J., Cabezón, O., Pailler-García, L., Dias-Alves, A., Lobato-Bailón, L., Marco, I., ... Napp, S. (2021). Hotspot of Crimean-congo hemorrhagic fever virus seropositivity in wildlife, northeastern Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 27(9), 2480–2484. <https://doi.org/10.3201/eid2709.211105>
- Estrada-Peña, A., Palomar, A. M., Santibáñez, P., Sánchez, N., Habela, M. A., Portillo, A., ... Oteo, J. A. (2012). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Ticks, Southwestern Europe, 2010. *Emerging Infectious Diseases*, 18(1), 179–180. <https://doi.org/10.3201/eid1801.111040>
- Estrada, D. F., & De Guzman, R. N. (2011). Structural Characterization of the Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Gn Tail Provides Insight into Virus Assembly. *Journal of Biological Chemistry*, 286(24), 21678–21686. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.216515>
- Febrer-Sendra, B., Fernández-Soto, P., García-Bernalt Diego, J., Crego-Vicente, B., Negrodo, A., Muñoz-Bellido, J. L., ... Muro, A. (2023). A Novel RT-LAMP for the Detection of Different Genotypes of Crimean–Congo Haemorrhagic Fever Virus in Patients from Spain. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7). <https://doi.org/10.3390/ijms24076411>
- Fels, J. M., Maurer, D. P., Herbert, A. S., Wirchnianski, A. S., Vergnolle, O., Cross, R. W., ... Laura, M. (2022). *HHS Public Access*. 184(13), 3486–3501. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.001>
- Fillâtre, P., Revest, M., & Tattevin, P. (2019). Crimean-Congo hemorrhagic fever: An update. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 49(8), 574–585. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.09.005>
- Fletcher, T. E., Gulzhan, A., Ahmeti, S., Al-Abri, S. S., Asik, Z., Atilla, A., ... Leblebicioglu, H. (2017). Infection

- prevention and control practice for Crimean-Congo hemorrhagic fever - A multi-center cross-sectional survey in Eurasia. *PLoS ONE*, *12*(9), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182315>
- Freitas, N., Enguehard, M., Denolly, S., Levy, C., Neveu, G., Lerolle, S., ... Cosset, F. L. (2020). The interplays between crimean-congo hemorrhagic fever virus (cchfv) m segment-encoded accessory proteins and structural proteins promote virus assembly and infectivity. *PLoS Pathogens*, *16*(9), 1–29. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008850>
- García Rada, A. (2016). First outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever in western Europe kills one man in Spain. *BMJ*, *354*(September), i4891. <https://doi.org/10.1136/bmj.i4891>
- Gargili, A., Estrada-Peña, A., Spengler, J. R., Lukashev, A., Nuttall, P. A., & Bente, D. A. (2017). The role of ticks in the maintenance and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: A review of published field and laboratory studies. *Antiviral Research*, *144*, 93–119. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.05.010>
- Garrison, A. R., Alkhovskiy [Альховский Сергей Владимирович], S. V., Avšič-Županc, T., Bente, D. A., Bergeron, É., Burt, F., ... Consortium, I. R. (2020). ICTV Virus Taxonomy Profile: Nairoviridae. *Journal of General Virology*, *101*(8), 798–799. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001485>
- Goedhals, D., Paweska, J. T., & Burt, F. J. (2017). Long-lived CD8+ T cell responses following Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *11*(12), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006149>
- Graci, J. D., & Cameron, C. E. (2006). Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Reviews in Medical Virology*, *16*(1), 37–48. <https://doi.org/10.1002/rmv.483>
- Grandi, G., Chitimia-dobler, L., Choklikitumnuey, P., Strube, C., Springer, A., Albihn, A., ... Omazic, A. (2020). First records of adult *Hyalomma marginatum* and *H. rufipes* ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *11*(3), 101403. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101403>
- Grard, G., Drexler, J. F., Fair, J., Muyembe, J. J., Wolfe, N. D., Drosten, C., & Leroy, E. M. (2011). Re-Emergence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in central Africa. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *5*(10), 4–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001350>
- Guglielmo, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D. A., Petney, T. N., Estrada Peña, A., Horak, I. G., ... Barker, S. C. (2010). *The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names*.
- Hawman, D. W., & Feldmann, H. (2023). Crimean–Congo haemorrhagic fever virus. *Nature Reviews Microbiology*, *21*(7), 463–477. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00871-9>
- Hawman, D. W., Haddock, E., Meade-White, K., Williamson, B., Hanley, P. W., Rosenke, K., ... Feldmann, H. (2018). Favipiravir (T-705) but not ribavirin is effective against two distinct strains of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in mice. *Antiviral Research*, *157*(June), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.06.013>
- Hema, M., & Konakalla, N. C. (2021). Recent developments in detection and diagnosis of plant viruses. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry*, 163–180.
- Hoogstraal, H. (1979). Review Article: The Epidemiology of Tick-Borne Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Asia, Europe, and Africa. *Journal of Medical Entomology*, *15*(4), 307–417. <https://doi.org/10.1093/jmedent/15.4.307>
- Hulswit, R. J. G., Paesen, G. C., Bowden, T. A., & Shi, X. (2021). Recent advances in bunyavirus glycoprotein research: Precursor processing, receptor binding and structure. *Viruses*, *13*(2), 1–30. <https://doi.org/10.3390/v13020353>
- Ibrahim, A. S., Ibrahim, K. S., Mohammed, M. O., Al-Shaikhani, M. A., Barzanji, A. A., Saeed, S. J., ... Bhnem, M. N. (2014). Crimean Congo hemorrhagic fever management in Erbil during 2010-2011. *European Scientific Journal*, *10*(24).
- Jalali, T., Salehi-Vaziri, M., Pouriayevali, M. H., & Gargari, S. L. M. (2021). Aptamer based diagnosis of crimean-congo hemorrhagic fever from clinical specimens. *Scientific Reports*, *11*(1), 12639. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91826-8>
- Johnson, S., Henschke, N., Maayan, N., Mills, I., Buckley, B. S., Kakourou, A., & Marshall, R. (2018). Ribavirin for treating Crimean Congo haemorrhagic fever. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *2018*(6). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012713.pub2>

- Kadanali, A., Erol, S., Özkurt, Z., & Özden, K. (2009). Epidemiological risk factors for Crimean-Congo hemorrhagic fever patients. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 39(6), 829–832. <https://doi.org/10.3906/sag-0904-49>
- Kamboj, A., Pateriya, A. K., Mishra, A., Ranaware, P., Kulkarni, D. D., & Raut, A. A. (2014). Novel molecular beacon probe-based real-time RT-PCR assay for diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in India. *BioMed Research International*, 2014, 5–8. <https://doi.org/10.1155/2014/496219>
- Karti, S. S., Odabasi, Z., Korten, V., Yilmaz, M., Sonmez, M., Caylan, R., ... Ksiazek, T. G. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerging Infectious Diseases*, 10(8), 1379–1384. <https://doi.org/10.3201/eid1008.030928>
- Keshtkar-Jahromi, M., Kuhn, J. H., Christova, I., Bradfute, S. B., Jahrling, P. B., & Bavari, S. (2011). Crimean-Congo hemorrhagic fever: Current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Research*, 90(2), 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.02.010>
- Khan, A. S., Maupin, G. O., Rollin, P. E., Noor, A. M., Shurie, H. H., Shalabi, A. G., ... Ijaz, K. (1997). An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates, 1994-1995. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57(5), 519–525.
- Komut, S., Çorakyer, N., Kaplan, G., & Baykam, N. (2023). An Evaluation of the Hitit Index in Differential Diagnosis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Emergency Department. *Medicina*, 59(10), 1796. <https://doi.org/10.3390/medicina59101796>
- Kubar, A., Hacıomeroglu, M., Ozkul, A., Bagriacik, U., Akinci, E., Sener, K., & Bodur, H. (2011). Prompt administration of crimean-congo hemorrhagic fever (CCHF) virus hyperimmunoglobulin in patients diagnosed with CCHF and viral load monitorization by reverse transcriptase-PCR. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 64(5), 439–443. <https://doi.org/10.7883/yoken.64.439>
- Kumar, B., Manjunathachar, H. V., & Ghosh, S. (2020). A review on Hyalomma species infestations on human and animals and progress on management strategies. *Heliyon*, 6(12), e05675. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05675>
- Leblebicioglu, H. (2010). Crimean-Congo haemorrhagic fever in Eurasia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(SUPPL. 1), 43–46. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.06.020>
- Leblebicioglu, H., Ozaras, R., Irmak, H., & Sencan, I. (2016). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral Research*, 126, 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.12.003>
- Liu, D., Li, Y., Zhao, J., Deng, F., Duan, X., Kou, C., ... Sun, S. (2014). Fine Epitope Mapping of the Central Immunodominant Region of Nucleoprotein from Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV). *PLoS ONE*, 9(11), e108419. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108419>
- Maltezou, H. C., Papa, A., Tsiodras, S., Dalla, V., Maltezos, E., & Antoniadis, A. (2009). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Greece: a public health perspective. *International Journal of Infectious Diseases*, 13(6), 713–716. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.11.011>
- Mardani, M., Jahromi, M. K., Naieni, K. H., & Zeinali, M. (2003). The Efficacy of Oral Ribavirin in the Treatment of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Iran. *Clinical Infectious Diseases*, 36(12), 1613–1618. <https://doi.org/10.1086/375058>
- Messina, J. P., Pigott, D. M., Golding, N., Duda, K. A., Brownstein, J. S., Weiss, D. J., ... Hay, S. I. (2015). *The global distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever*. (July), 503–513. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trv050>
- Mofleh, J., & Ahmad, A. Z. (2012). Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak investigation in the Western Region of Afghanistan in 2008. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 18(5), 522–526. <https://doi.org/10.26719/2012.18.5.522>
- Moshref, Z. S., Jalali, T., Rezaei Adriani, R., Soltati, E., & Mousavi Gargari, S. L. (2023). Aptamer-based diagnosis of various SARS-CoV2 strains isolated from clinical specimens. *Heliyon*, 9(6), e16458. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16458>
- Mousavi-Jazi, M., Karlberg, H., Papa, A., Christova, I., & Mirazimi, A. (2012). Healthy individuals' immune response to the Bulgarian Crimean-Congo hemorrhagic fever virus vaccine. *Vaccine*, 30(44), 6225–6229. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.08.003>
- Mustafa, M. L., Ayazi, E., Mohareb, E., Yingst, S., Zayed, A., Rossi, C. A., ... Leslie, T. (2011). Crimean-Congo

- Hemorrhagic Fever, Afghanistan, 2009. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1940–1941. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110061>
- Negredo, A., de la Calle-Prieto, F., Palencia-Herrejón, E., Mora-Rillo, M., Astray-Mochales, J., Sánchez-Seco, M. P., ... Arribas, J. R. (2017). Autochthonous Crimean–Congo Hemorrhagic Fever in Spain. *New England Journal of Medicine*, 377(2), 154–161. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1615162>
- Nekliudov, M. (1952). A case of hemorrhagic fever (Crimean). *Savremenna Medicina*, 5, 92–95.
- Oestereich, L., Rieger, T., Neumann, M., Bemreuther, C., Lehmann, M., Krasemann, S., ... Günther, S. (2014). Evaluation of Antiviral Efficacy of Ribavirin, Arbidol, and T-705 (Favipiravir) in a Mouse Model for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002804>
- Omoga, D. C. A., Tchouassi, D. P., Venter, M., Ogola, E. O., Osalla, J., Kopp, A., ... Sang, R. (2023). Transmission Dynamics of Crimean–Congo Haemorrhagic Fever Virus (CCHFV): Evidence of Circulation in Humans, Livestock, and Rodents in Diverse Ecologies in Kenya. *Viruses*, 15(9), 1–17. <https://doi.org/10.3390/v15091891>
- Ozdarendeli, A. (2023). Crimean–Congo Hemorrhagic Fever Virus: Progress in Vaccine Development. *Diagnostics*, 13(16), 1–29. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13162708>
- Ozkaya, E., Dincer, E., Carhan, A., Uyar, Y., Ertek, M., Whitehouse, C. A., & Ozkul, A. (2010). Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Turkey: Occurrence of local topotype. *Virus Research*, 149(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.12.014>
- Palomar, A. M., Portillo, A., Santibáñez, P., Mazuelas, D., Arizaga, J., Crespo, A., ... Oteo, J. A. (2013). Crimean-congo hemorrhagic fever virus in ticks from migratory birds, Morocco. *Emerging Infectious Diseases*, 19(2), 260–263. <https://doi.org/10.3201/eid1902.121193>
- Papa, Anna, Christova, I., Papadimitriou, E., & Antoniadis, A. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria. *Emerging Infectious Diseases*, 10(8), 1465–1467. <https://doi.org/10.3201/eid1008.040162>
- Papa, Anna, Papadimitriou, E., & Christova, I. (2011). The Bulgarian vaccine Crimean-Congo haemorrhagic fever virus strain. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 43(3), 225–229. <https://doi.org/10.3109/00365548.2010.540036>
- Papa, Anna, Tsergouli, K., Tsioka, K., & Mirazimi, A. (2017). Crimean-Congo hemorrhagic fever: Tick-host-virus interactions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(MAY), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00213>
- Papa, Anna, Tzala, E., & Maltezou, H. C. (2011). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus, Northeastern Greece. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 141–143. <https://doi.org/10.3201/eid1701.100073>
- Papadopoulos, O. t., & Koptopoulos, G. (1980). Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Greece: isolation of the virus from Rhipicephalus bursa ticks and a preliminary serological survey. *Zentbl Bakteriol Hyg Abt, 1(Suppl 9)*, 189–193.
- Pattyn, S. R. (1978). Ebola virus haemorrhagic fever. Proceedings of an International Colloquium on Ebola Virus Infection and Other Haemorrhagic Fevers held in Antwerp, Belgium, 6-8 December, 1977. *Ebola Virus Haemorrhagic Fever. Proceedings of an International Colloquium on Ebola Virus Infection and Other Haemorrhagic Fevers Held in Antwerp, Belgium, 6-8 December, 1977*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 335 Jan van Galenstraat, PO Box 211
- Rosenke, K., Feldmann, H., Westover, J. B., Hanley, P. W., Martellaro, C., Feldmann, F., ... Safronetz, D. (2018). Use of favipiravir to treat lassa virus infection in Macaques. *Emerging Infectious Diseases*, 24(9), 1696–1699. <https://doi.org/10.3201/eid2409.180233>
- Safronetz, D., Rosenke, K., Westover, J. B., Martellaro, C., Okumura, A., Furuta, Y., ... Gowen, B. B. (2015). The broad-spectrum antiviral favipiravir protects Guinea pigs from lethal Lassa virus infection post-disease onset. *Scientific Reports*, 5(June), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep14775>
- Saijo, M., Tang, Q., Shimayi, B., Han, L., Zhang, Y., Asiguma, M., ... Morikawa, S. (2005). Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *Journal of Medical Virology*, 75(2), 295–299. <https://doi.org/10.1002/jmv.20270>
- Salim Abadi, Y., Telmadarraiy, Z., Vatandoost, H., Chinikar, S., Oshaghi, M. A., Moradi, M., ... Nasiri, A. (2010). Hard ticks on domestic ruminants and their seasonal population dynamics in Yazd Province, Iran. *Iranian*

Journal of Arthropod-Borne Diseases, 4(1), 66–71.

- Sargianou, M., Panos, G., Tsatsaris, A., Gogos, C., & Papa, A. (2013). Crimean-Congo hemorrhagic fever: Seroprevalence and risk factors among humans in Achaia, western Greece. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(12), e1160–e1165. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.07.015>
- Schluederberg, A. N. N. (1965). Immune Globulins in Human Viral Infections. *Nature*, 205(4977), 1232–1233. <https://doi.org/10.1038/2051232a0>
- Schwarz, T. F., Nsanze, H., Longson, M., Nitschko, H., Gilch, S., Shurie, H., ... Jager, G. (1996). Polymerase chain reaction for diagnosis and identification of distinct variants of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the United Arab Emirates. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55(2), 190–196. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1996.55.190>
- Shahhosseini, N., Wong, G., Babuadze, G., Camp, J. V., Ergonul, O., Kobinger, G. P., ... Nowotny, N. (2021). Crimean-congo hemorrhagic fever virus in asia, africa and europe. *Microorganisms*, 9(9), 1–24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091907>
- Sharifi-Mood, B., Metanat, M., & Alavi-Naini, R. (2014). Prevalence of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Among High Risk Human Groups. *International Journal of High Risk Behaviors and Addiction*, 3(1), 5–8. <https://doi.org/10.5812/ijhrba.11520>
- Simpson, D. I. H., Knight, E. M., Courtois, G. H., Williams, M. C., Weinbren, M. P., & Kibukamusoke, J. W. (1967). Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. Part 1. Human isolations—clinical notes. *East African Medical Journal*, 44(2), 87–92.
- Spengler, J. R., Bente, D. A., Bray, M., Burt, F., Hewson, R., Korukluoglu, G., ... Papa, A. (2018). Second International Conference on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Antiviral Research*, 150(November 2017), 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.019>
- Spengler, J. R., Bergeron, É., & Rollin, P. E. (2016). Seroepidemiological Studies of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Domestic and Wild Animals. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(1), 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004210>
- Spengler, J. R., Estrada-Peña, A., Garrison, A. R., Schmaljohn, C., Spiropoulou, C. F., Bergeron, É., & Bente, D. A. (2016). A chronological review of experimental infection studies of the role of wild animals and livestock in the maintenance and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral Research*, 135, 31–47. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.09.013>
- Spiropoulou, C. F., & Bente, D. A. (2020). Orthohantavirus, orthonairovirus, orthobunyavirus, and phlebovirus. *Fields Virology. Philadelphia, Pennsylvania: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins*, 750–783.
- Stähelin-Massik, J., Zimmermann, H., & Gnehm, H. E. (2008). Tick-borne encephalitis in swiss children 2000-2004: Five-year nationwide surveillance of epidemiologic characteristics and clinical course. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 27(6), 555–557. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e318165c195>
- Tang, Q., Saijo, M., Zhang, Y., Asiguma, M., Tianshu, D., Han, L., ... Morikawa, S. (2003). A patient with Crimean-Congo hemorrhagic fever serologically diagnosed by recombinant nucleoprotein-based antibody detection systems. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 10(3), 489–491. <https://doi.org/10.1128/CDLI.10.3.489-491.2003>
- Tchesnokov, E. P., Bailey-Elkin, B. A., Mark, B. L., & Götte, M. (2020). Independent inhibition of the polymerase and deubiquitinase activities of the Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus full-length L-protein. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(6), e0008283. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008283>
- Temur, A. I., Kuhn, J. H., Pecor, D. B., Apanaskevich, D. A., & Keshtkar-Jahromi, M. (2021). Epidemiology of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Africa—Underestimated for Decades. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(6), 1978–1990. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1413>
- Tezer, H., Sucakli, I. A., Sayli, T. R., Celikel, E., Yakut, I., Kara, A., ... Ergonul, O. (2010). Crimean-Congo hemorrhagic fever in children. *Journal of Clinical Virology*, 48(3), 184–186. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2010.04.001>
- Tignor, G. H., & Hanham, C. A. (1993). Ribavirin efficacy in an in vivo model of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) infection. *Antiviral Research*, 22(4), 309–325.
- Tipih, T., & Burt, F. J. (2020). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus: advances in vaccine development. *BioResearch Open Access*, 9(1), 137–150.

- Vesenjak-Hirjan, J., Punda-Polić, V., & Dobe, M. (1991). Geographical distribution of arboviruses in Yugoslavia. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology*, 35(2), 129–140.
- Vorou, R., Pierroutsakos, I. N., & Maltezou, H. C. (2007). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 20(5), 495–500. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282a56a0a>
- Wasfi, F., Dowall, S., Ghabbari, T., Bosworth, A., Chakroun, M., Varghese, A., ... Letaief, A. (2016). Sero-epidemiological survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Tunisia. *Parasite*, 23. <https://doi.org/10.1051/parasite/2016010>
- Watts, D. M., Ksiazek, T. G., Linthicum, K. J., & Hoogstraal, H. (2019). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *The Arboviruses*, 177–222.
- Watts, D. M., Ussery, M. A., Nash, D., & Peters, C. J. (1989). Inhibition of Crimean-Congo hemorrhagic fever viral infectivity yields in vitro by ribavirin. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41(5), 581–585.
- Weidmann, M., Avsic-Zupanc, T., Bino, S., Bouloy, M., Burt, F., Chinikar, S., ... Zeller, H. (2016). Biosafety standards for working with crimean-congo hemorrhagic fever virus. *Journal of General Virology*, 97(11), 2799–2808. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000610>
- Whitehouse, C. A. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 64(3), 145–160. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2004.08.001>
- World Health Organization (WHO). (2018). *Roadmap for Research and Product Development against Crimean-Congo Haemorrhagic Fever (CCHF)*. 1–11. Retrieved from <https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/cCHF-draft-r-and-d-roadmap.pdf?ua=1>
- World Health Organization (WHO). (2020). Vector-borne diseases. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
- World Health Organization (WHO). (2022a). Crimean-Congo haemorrhagic fever. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/crimean-congo-haemorrhagic-fever>
- World Health Organization (WHO). (2022b). Crimean-Congo haemorrhagic fever. Retrieved from https://www.who.int/health-topics/crimean-congo-haemorrhagic-fever/#tab=tab_1
- Zivcec, M., Scholte, F., Spiropoulou, C., Spengler, J., & Bergeron, É. (2016). Molecular Insights into Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. *Viruses*, 8(4), 106. <https://doi.org/10.3390/v8040106>

Atf İçin: Balaban, E. ve Candoğan, B. N. (2024). Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasında Sulama Performansının Değerlendirilmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 668-680.

To Cite: Balaban, E. & Candoğan, B. N. (2024). Performance Evaluation of Pamukçu and Aslıhantepecik Plain Irrigation. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 668-680.

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasında Sulama Performansının Değerlendirilmesi

Elif BALABAN^{1*}, Burak Nazmi CANDOĞAN²

Öne Çıkanlar:

- Sulama oranı “iyi” seviyede bulundu
- Yatırımın geri dönüşüm oranı olumlu olarak değerlendirildi
- Su ücreti toplama performansı olumlu olarak değerlendirildi

Anahtar Kelimeler:

- Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası
- Sulama performansı
- Performans göstergesi
- Sulama birliği

ÖZET:

Bu çalışmada Balıkesir ilinde bulunan Balıkesir Sulama Birliği'ne bağlı Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması sulama performansı 2016-2018 yılları için değerlendirilmiştir. Performans değerlendirmesinde Sulama ve Drenajda Uluslararası Teknoloji ve Araştırma Programı (IPTRID) tarafından önerilen su kullanım, mali ve bitkisel üretim performansı başlıkları altında, toplam 15 adet performans göstergesinden yararlanılmıştır. Yapılan hesaplamalara göre, birim alana dağıtılan yıllık sulama suyu miktarı 7888.61-9859.57 m³/ha, birim sulanan alana dağıtılan yıllık sulama suyu miktarı ortalaması 13202.42 m³/ha, yıllık su temini oranı 1.37-1.70, sulama oranı %65.32-67.06, yatırımın geri dönüşüm oranı %71.65-93.46, birim alana düşen toplam işletme-bakım-yönetim masrafı ortalaması 321.45 TL/ha, su dağıtımında istihdam edilen her bir kişiye düşen toplam masraf 22426.07-33866.17 TL/kişi, su ücreti toplama performansı %73.81-83.07, birim alana düşen personel sayısı 2.7-3.2 kişi/1000 ha, birim sulama suyuna karşılık elde edilen ortalama gelir 0.027 TL/m³, yıllık toplam tarımsal üretim miktarı 94530.71-129667.535 ton, yıllık toplam tarımsal üretim değeri 34099273-43536755 TL, birim sulama alanına karşılık elde edilen gelir 7688.67-9830.13 TL/ha, sulanan birim alana karşılık elde edilen gelir 11769.64-14809.03 TL/ha, şebekeye alınan birim sulama suyuna karşılık elde edilen gelir 0.91-1.24 TL/m³ olarak bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda şebekeye aşırı su verilmesi dışında diğer göstergeler bakımından sulama şebekesinin başarılı bir performans gösterdiği söylenebilir.

Performance Evaluation of Pamukçu and Aslıhantepecik Plain Irrigation

Highlights:

- Irrigation rate was found at “good” level
- Investment return rate was evaluated positively
- Water fee collection performance was evaluated positively

Keywords:

- Pamukçu and Aslıhantepecik Plain
- Irrigation performance
- Performance indicator
- Irrigation association

ABSTRACT:

In this study, the irrigation performance of Pamukçu and Aslıhantepecik Plain Irrigation, affiliated to Balıkesir Irrigation Association in Balıkesir province, was evaluated for the years 2016-2018. In the performance evaluation, a total of 15 performance indicators were used under the headings of water use, financial and crop production performance recommended by the International Programme for Technology and Research in Irrigation and Drainage (IPTRID). According to the calculations, annual amount of irrigation water distributed to the unit area was 7888.61-9859.57 m³/ha, the average annual amount of irrigation water distributed to the unit irrigated area was 13202.42 m³/ha, annual water supply rate was 1.37-1.70, irrigation rate was 65.32-67.06%, investment return rate was 71.65-93.46%, average total operation-maintenance-management cost per unit area was 321.45 TL/ha, total cost per person employed in water distribution was 22426.07-33866.17 TL/person, water fee collection performance was 73.81-83.07%, number of personnel per unit area was 2.7-3.2 persons/1000 ha, average income per unit of irrigation water was 0.027 TL/m³, annual total agricultural production amount was 94530.71-129667.535 tons, annual total agricultural production value was 34099273-43536755 TL, income per unit irrigation area was 7688.67-9830.13 TL/ha, income per unit area irrigated was 11769.64-14809.03 TL/ha, income obtained in return for the unit irrigation water taken into the network was 0.91-1.24 TL/m³. As a result of the study, it can be said that the irrigation network has shown a successful performance except supplying excess water to the network.

¹Elif BALABAN ([Orcid ID: 0000-0003-1383-2773](https://orcid.org/0000-0003-1383-2773)), Devlet Su İşleri (DSİ) 1. Bölge Müdürlüğü, Planlama Şube Müdürlüğü, Bursa, Türkiye

²Burak Nazmi CANDOĞAN ([Orcid ID: 0000-0001-9898-5685](https://orcid.org/0000-0001-9898-5685)), Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Elif BALABAN, e-mail: balaban1680@gmail.com

Bu çalışma Elif BALABAN'ın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Dünyanın dörtte üçü suyla kaplı olmasına rağmen insanların ihtiyaçlarını karşılayabilecek olan tatlı su miktarı önemli derecede kısıtlıdır. Dünyada var olan tatlı su miktarı 35 milyar km^3 civarındadır. Bu da toplam suyun %2.5'ü kadardır ve %0.3'ü (105000 km^3) insan kullanımı ve ekosistem için kullanılabilir su kaynaklarından oluşmaktadır (Anonim, 2003).

Devlet Su İşleri (DSİ) 2021 yılı Faaliyet Raporuna göre; Ülkemizin toplam su potansiyeli 112 milyar m^3 olup, bu potansiyelin 58.41 milyar m^3 'lük kısmı kullanılmaktadır. Bununda 45.05 milyar m^3 'ünün (%77) tarım arazilerinin sulanmasında, 13.36 milyar m^3 'ünün (%23) endüstriyel alanda ve insanlar tarafından içme-kullanım suyu olarak tüketildiği saptanmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK, 2021) verileri ülkemiz nüfusunun 84680273 kişi ve kişi başına düşen kullanılan yıllık su miktarının ise 1323 m^3 olduğunu göstermektedir. Ülkemiz su stresi altında bir ülke olup (DSİ, 2021) bu yüzden suyun, kurulacak tesislerle depolanmasına ve kullanımında fazla tüketimin engellenmesine yönelik çalışmalar büyük öneme sahiptir.

Sulama projelerinde su kaynaklarının güvenilir, eşit, yeterli miktarda ve aktif olarak kullanılması sulama alanından elde edilen tarımsal verimliliği ve net kazancı artırırken, bunun aksine aşırı miktarda su kullanımı da tarım arazilerinde drenaj sorunlarına ve tuzluluğa neden olmaktadır (Molden ve Gates, 1990).

Türkiye'de uzun yıllar sulama tesislerinin inşa, işletme, bakım ve onarımı DSİ aracılığıyla yürütülmüştür. Fakat zamanın ve şartların değişmesiyle mali olarak devletteki bürokratik işleyiş yüzünden tesisler olumsuz etkilenmiş, işletme, bakım ve onarım işlerinde aksaklıklar yaşanmıştır. Mevcut durumla ilgili dünyadaki örnekler incelenerek katılımcı sulama yönetimi anlayışına geçilmesine karar verilmiş olup tesislerde işletme bakım giderlerinde düşüş (bakım-onarım, personel, enerji giderleri) sağlanmıştır. Ayrıca kullanıcıların su yönetimine etkin olarak katılımına, daha adaletli su taksimine, sorunların yerinde çözümüne, faydalar ve özdenetimin gelişimine katkıda bulunmuştur (Akçay, 2007).

Ülkemizde, 31.12.2021 tarihine kadar ki süreçte, sulama tesislerinin tesisi kullananlara devri faaliyetleri sonucunda toplamda 2800745 hektar (net) alanın işletme bakım hizmetleri, başta sulama birlikleri olmak üzere belediye, kooperatif, köy tüzel kişiliği vb. kuruluşlarca sağlanmaktadır. Sulama birliklerince işletilen alan, devri yapılan sahanın %85.1'ini kapsamaktadır (DSİ, 2021).

Bir sulama sistemi teknik ve ekonomik açıdan uygun biçimde oluşturulduktan sonra, sistemin doğal olarak en verimli şekilde işletme, bakım ve yönetimi ekonomik ömrü boyunca istenmektedir. Yürütülen çalışmaların ve halkın görüşlerinin belli aralıklarla izlenip değerlendirilmesi Türkiye'de tarımsal üretimin arttırılmasında önemli bir yeri olan sulama geliştirme projelerinin planlamasında öngörülen hedeflere ulaşılabilmesi daha iyi işletimi, bakımı ve yönetilmesi için, izleme ve değerlendirme sistemi altında performans göstergeleri ile sorgulanması gerekmektedir (Beyribey ve ark., 1997).

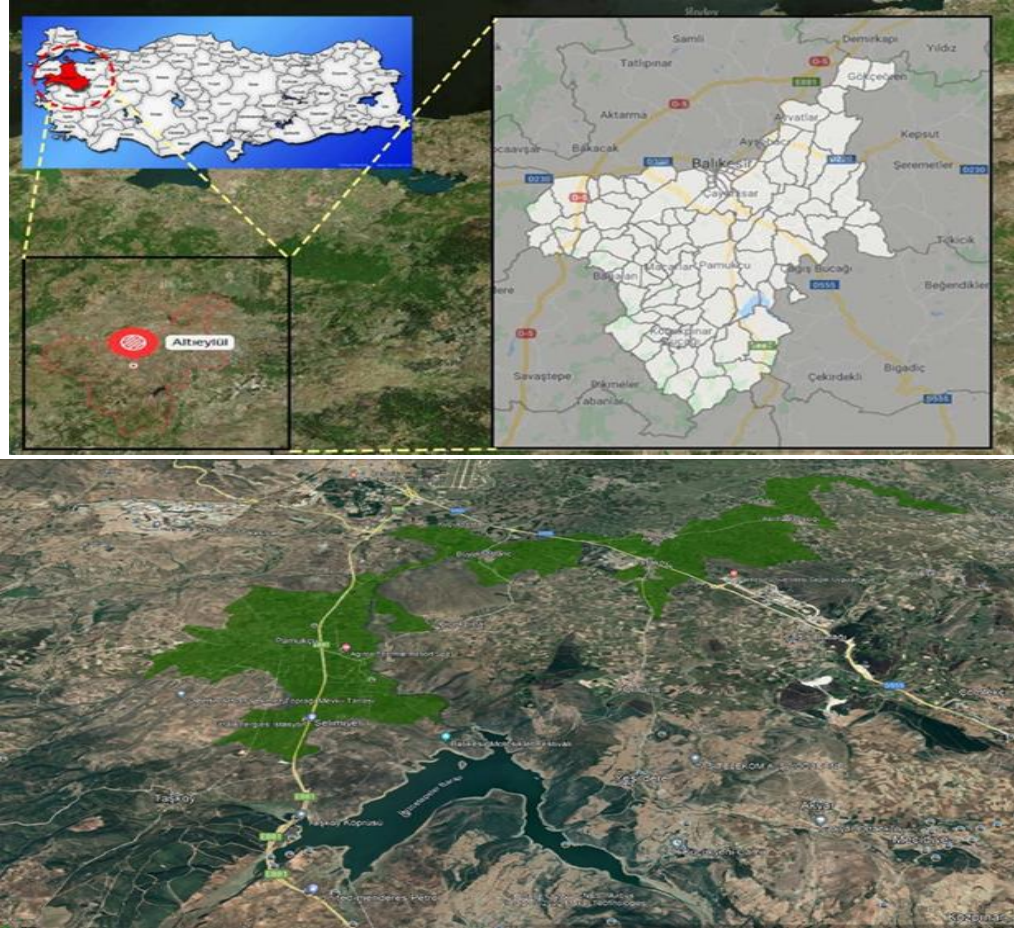
Sulama sistemlerinde performans analizi yapılırken kullanılan göstergeler sulama randımanı ile ilişkili olup suyun kaynağından bitki kök kısmına olan iletimi, dağıtım ve uygulama işlemlerini; tarımsal faaliyetleri içeren tarımsal etkinlik ve sulu tarımın devamlılığını içerdiği ekonomik, sosyal ve çevresel göstergeler olmak üzere sınıflandırılabilir (Benli ve Beyribey, 1998).

Bu çalışmada, Marmara Bölgesi'nde yer alan Balıkesir ilinde faaliyet gösteren Balıkesir Sulama Birliği'ne bağlı Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasının 2016-2018 yılları için sulama performans değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışmada, su dağıtımı, mali ve üretim performansı Sulama

ve Drenajda Uluslararası Teknoloji ve Araştırma Programı (IPTRID) tarafından geliştirilen gösterge seti kullanılarak hesaplanmıştır (Malano ve Burton, 2001).

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyali Susurluk Havzası'nda faaliyet gösteren Balıkesir Sulama Birliği'ne devri gerçekleşen Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması'dır. Sulama sahası, Marmara Bölgesi'nin güneyinde Susurluk Havzası'nda konumlanmakta ve 39° 04' ve 40° 40' kuzey enlemleri ile 23° 02' ve 26° 02' doğu boylamlarının arasındadır. Çalışma alanı konumu ve Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasına ait sulama sahası Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Çalışma alanı konumu ve sulama sahası

Balıkesir ilinde üç iklim bir arada görülmektedir. Ege kıyıları boyunca Akdeniz, kuzey kesiminde Marmara ve iç bölgelerde ise kara iklimi hüküm sürer. Sulama sahasında genel olarak Marmara ikliminin karasal tipi hakimdir. Bu iklim tipinde yazları sıcak ve az yağışlı; kışları ise soğuk ve yağışlı olarak hüküm sürer. Araştırma sahasının bulunduğu Balıkesir ili uzun yıllar (1999-2019) iklim verilerine göre ortalama sıcaklık, rüzgar hızı, bağıl nem ve yağış değerleri sırasıyla 17.7 °C, 2.8 m/s, %70.7 ve 600.4 mm'dir (MGM, 2020). Çalışma yıllarına ait iklim verileri Çizelge 1'de verilmiştir. Etüt sahası toprakları, kollüvial ve allüvial karakterdedir. Allüvial topraklar Balıkesir ovasının orta, kuzey ve batı kısımlarında geniş sahalar kaplamaktadır. Pamukçu ovasının orta ve doğu kesimleri genellikle allüvial topraklarla kaplı bulunmaktadır. Kollüvial topraklar Balıkesir ovasının güneyinde, Pamukçu ovasının batı ve güney kısımlarında Kepsut ovası arazilerinde oldukça yaygındır (Anonim, 1983). Pamukçu Ovası, sulama sahası çevresi tepe ve sırtlarla çevrili çanak şeklinde bir ovadır. Genel eğim taban arazilerde güney-kuzey yönünde, yamaç arazilerde ise tepe ve sırtlardan ova tabanına doğru %1-10 arasındadır. Aslıhantepecik Ovası sulama sahası taban ve yamaç arazilerden

oluşturmuştur. Yamaç araziler sulama alanının güney ve güneydoğusunu bir şerit halinde kaplamakta olup eğim %2-9 arasında değişmektedir (Anonim, 1987).

Çizelge 1. Çalışma yıllarına ait iklim verileri

| Yıl | İklim Parametreleri | Aylar | | | | | |
|------|-------------------------------|-------|---------|--------|---------|-------|-------|
| | | Mayıs | Haziran | Temmuz | Ağustos | Eylül | Ekim |
| 2016 | Ort. Sıcaklık (°C) | 17.4 | 24.0 | 26.0 | 25.9 | 21.2 | 15.6 |
| | Rüzgâr Hızı (m/s) | 2.3 | 3.5 | 5.4 | 5.3 | 3.7 | 3.1 |
| | Bağıl Nem (%) | 69.8 | 59.4 | 55.8 | 63.6 | 61.2 | 68.8 |
| | Top. Güneşlenme Süresi (saat) | 244.6 | 313.0 | 357.3 | 298.6 | 270.3 | 202.0 |
| | Top. Yağış (mm) | 51.0 | 23.2 | - | - | 1.0 | 13.6 |
| 2017 | Ort. Sıcaklık (°C) | 17.1 | 22.8 | 25.4 | 25.1 | 22.0 | 14.4 |
| | Rüzgâr Hızı (m/s) | 2.8 | 2.4 | 4.8 | 5.4 | 2.6 | 2.4 |
| | Bağıl Nem (%) | 70.0 | 64.7 | 56.8 | 63.3 | 55.1 | 68.5 |
| | Top. Güneşlenme Süresi (saat) | 228.5 | 288.0 | 339.1 | 268.0 | 261.5 | 204.3 |
| | Top. Yağış (mm) | 40.4 | 23.6 | 9.0 | 6.0 | 3.2 | 40.8 |
| 2018 | Ort. Sıcaklık (°C) | 19.4 | 22.9 | 25.9 | 26.3 | 21.5 | 16.6 |
| | Rüzgâr Hızı (m/s) | 2.0 | 2.2 | 2.7 | 4.9 | 3.3 | 2.8 |
| | Bağıl Nem (%) | 71.9 | 65.4 | 60.7 | 61.5 | 67.2 | 74.0 |
| | Top. Güneşlenme Süresi (saat) | 204.9 | 264.8 | 318.3 | 308.9 | 221.4 | 183.1 |
| | Top. Yağış (mm) | 35.0 | 98.2 | 45.8 | 0.6 | 19.2 | 26.6 |

Sulama sahasının su kaynağı, İkizcetepeler Baraj yerinde 469.5 km²'lik yağış alanı bulunan Kille Deresi ve kollarıdır. Kille Deresi üzerinde bulunan İkizcetepeler Barajı içme suyu ve sulama suyu amaçlı kullanılmaktadır (Anonim, 1983). Kille Deresi'nin sulama suyu kalitesi yönünden sınıfı C₂S₁'dir (Anonim, 2016).

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması sulama sahasındaki 2016, 2017 ve 2018 yıllarına ilişkin bitki ekiliş oranları ve sulama suyu ihtiyaçları Çizelge 2'de sunulmuştur (Anonim 2016a, b; Anonim 2017a, b; Anonim 2018a, b). Mısır (silajlık), her çeşit sebze, yem bitkileri ve her çeşit meyve bölgede yetiştiriciliği yapılan temel tarım ürünleridir.

Çizelge 2. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması sulama sahaslarındaki 2016, 2017 ve 2018 yıllarına ait bitki ekiliş oranları ve sulama suyu ihtiyaçları (SSİ)

| Bitki Çeşitleri | SSİ (mm) | Yıllara Göre Ekiliş Oranı (%) | | |
|-----------------------|----------|-------------------------------|--------|-------|
| | | 2016 | 2017 | 2018 |
| Şekerpancarı | 644 | 0.50 | - | - |
| Baklagiller | 323 | 1.20 | 1.34 | 1.22 |
| Bostan | 195 | 0.50 | 0.34 | 0.10 |
| Susam | 276 | - | 0.0034 | - |
| Her Çeşit Meyve | 532 | 0.50 | 2.38 | 2.62 |
| Her Çeşit Sebze | 461 | 20.00 | 16.03 | 12.15 |
| Soğan, Sarımsak | 547 | 1.00 | 0.15 | 0.33 |
| Yem Bitkileri | 721 | 9.80 | 12.26 | 13.00 |
| Silajlık Mısır | 435 | 66.40 | 67.37 | 70.47 |
| Mevsim Dışı Sulamalar | 221 | 0.10 | - | 0.11 |
| Toplam | 4355 | 100 | 100 | 100 |

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması tesisi 1995 yılında işletmeye açılmıştır. Tesis 1998 yılında Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulama Birliği'ne devredilmiştir. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulama Birliği 6172 sayılı Kanuna göre hazırlanan ana statüsü Orman ve Su İşleri Bakanlığı'nın 13.04.2012 tarihli Olur'u ile yürürlüğe girmiştir. Daha sonra tesis 2019 yılında Balıkesir Sulama Birliği'ne devir olmuştur. Birliğin merkezi Balıkesir ili Merkez ilçesidir. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması sulama alanı 4435 hektardır. Bunun 3314 hektarı cazibe, 1121 hektarı da pompaj sulamadır. Sulama yöntemleri ise 1536 hektarda yüzey sulama, 214 hektarda yağmurlama sulama, 1292 hektar alanda da damla sulama şeklindedir. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması cazibe sulama, P₁ pompaj sulaması, P₂ pompaj sulaması ve P₃ pompaj sulaması olmak üzere dört kısımdan oluşmaktadır. Sulama sisteminde, açık kanalların dışındaki bütün kanallar kapalı sistemdir. Cazibe sulaması ile P₁, P₂, P₃ pompaj sulamalarına ait genel bilgiler ise sırasıyla Çizelge 3 ve Çizelge 4'te sunulmuştur.

Çizelge 3. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovaları cazibe sulamasına ilişkin bilgiler

| | |
|------------------------------------|--------------------------------|
| Su Alma Yeri | İkizcetepeler Barajı Dip Savak |
| Sulama Alanı (brüt) | 3314 ha |
| Sulama Alanı (net) | 2967 ha |
| Ana Kanal Uzunluğu (Klasik) | 50+750 km |
| Ana Kanal Eğimi | 0.0003 |
| Max. Sulama Modülü | 0.89 L/s/ha |

Çizelge 4. P₁, P₂ ve P₃ pompaj sulamalarına ilişkin bilgiler

| | P ₁ | P ₂ | P ₃ |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Sulama Alanı (brüt) | 215 ha | 362 ha | 650 ha |
| Sulama Alanı (net) | 185 ha | 338 ha | 598 ha |
| Kanal Uzunluğu | 4+475 km | 8+000 km | 8+000 km |
| Kanal Eğimi | 0.0005 | 0.0005 | 0.0003 |
| Max. Sulama Modülü | 0.89 L/s/ha | 0.89 L/s/ha | 0.89 L/s/ha |
| Pompa İstasyonu Kurulu Gücü | 120 kW | 200 kW | 200 kW |
| Ünite Sayısı ve Ünite Gücü | 3 (2 esas 1 yedek) 40 kW | 4 (3 esas 1 yedek) 50 kW | 4 (3 esas 1 yedek) 50 kW |

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması performansı, sulama ve drenaj sistemlerinde önerilen karşılaştırmalı gösterge setleri kullanılarak değerlendirilmiştir (Malano ve Burton, 2001). Bu değerlendirmede su dağıtım performansı, mali performans ve üretim performansı başlıkları altında toplam 15 adet göstergeden yararlanılmıştır (Çizelge 5). Bu performans göstergelerinden bazılarının sınıflandırılmasında kullanılan ölçütler Çizelge 6'da verilmiştir. Çalışmada, 2016-2018 yıllarındaki verilerden yararlanılmış, gerekli veriler Balıkesir Sulama Birliği ve DSİ 25. Bölge Müdürlüğü'nden sağlanmıştır (Anonim 2016a, b; Anonim 2017a, b; Anonim 2018a, b).

Çizelge 5. Değerlendirmede kullanılan performans göstergeleri (Malano ve Burton, 2001; Nalbantoğlu, 2006)

| Alan | Performans Göstergeleri |
|------------------------|---|
| Su Dağıtım Performansı | Birim alana dağıtılan yıllık sulama suyu miktarı (BADYSSM, m ³ /ha)= (Sulama sistemine giren top. su miktarı)/(Sulama alanı) |
| | Birim sulanan alana dağıtılan yıllık sulama suyu miktarı (BSADYSSM, m ³ /ha)= (Sulama sistemine giren top. su miktarı)/(Sulanan alan) |
| | Yıllık su temini oranı (YSTO, %)= (Sulama sistemine giren top. su miktarı) / (Top. sulama suyu ihtiyacı) |
| | Sulama oranı (SO, %)= (Sulanan alan) / (Sulama alanı) |
| Mali Performans | Yatırımın geri dönüşüm oranı (YGDO, %)= (Kullanıcılardan toplanan top. su ücreti)/(Top. işletme-bakım-yönetim masrafları) |
| | Birim alana düşen top. işletme – bakım – yönetim masrafı (BADTİBYM, TL/ha)= (Toplam işletme- bakım-yönetim masrafları) / (Sulama alanı) |
| | Su dağıtımında istihdam edilen her bir kişiye düşen top. masraf (SDİEHBKDTM, TL/kişi)= (İşletme-bakım personelinin top. masrafı)/(İşletme bakımında görevli eleman sayısı) |
| | Su ücreti toplama performansı (SÜTP, %)= (Kullanıcılardan toplanan top. su ücreti)/(Alınması gereken top. su ücreti) |
| | Birim alana düşen çalıştırılan personel sayısı (BADÇPS, kişi/ha)= (İşletme-bakım personeli sayısı)/(Sulama alanı) |
| Üretim Performansı | Şebekeye alınan birim sulama suyuna karşılık elde edilen ortalama gelir (ŞABSSKEEOG, TL/m ³)= (Kullanıcılardan toplanan top. su ücreti)/(Kullanıcılara dağıtılan top. su miktarı) |
| | Yıllık top. tarımsal üretim (YTTÜ, ton) (Her bitkiden elde edilen toplam üretim) |
| | Yıllık top. tarımsal üretim değeri (YTTÜD, TL)= (Her bitkiden elde edilen top. ürün miktarı) × (Ürünün satış fiyatı) |
| | Birim sulama alanına karşılık elde edilen gelir (BSAKEEG, TL/ha)= (Top. üretim değeri) / (Sulama alanı) |
| | Sulanan birim alana karşılık elde edilen gelir (SBAKEEG, TL/ha)= (Top. üretim değeri) / (Sulanan alan) |
| | Şebekeye alınan birim sulama suyuna karşılık elde edilen gelir (ŞABSSKEEG, TL/m ³)= (Top. üretim değeri) / (Şebekeye alınan top. su miktarı) |

Çizelge 6. Çalışmada değerlendirilen bazı performans göstergelerinin sınıflandırılması (Bekişoğlu, 1994; Vermillion, 2000)

| Göstergeler | Zayıf | Kabul edilebilir | Memnun edici | İyi | Açıklama |
|--|-------|------------------|--------------|-----|---|
| Sulama oranı (%) | <30 | 30-40 | 40-50 | >50 | Sulanan alanın sulama alanına oranı |
| Su ücreti toplama performansı (%) | <40 | 40-60 | 60-75 | >75 | Kullanıcılardan alınması gereken su ücretinin %'si olarak toplanan su ücreti |
| Masrafları karşılama oranı (%) | <40 | 40-60 | 60-75 | >75 | Toplam işletme bakım yönetim masraflarının %'si olarak kullanıcılardan toplanan su ücreti |
| Birim alanda çalıştırılan personel sayısı (kişi/1000 ha) | >3 | - | <3 | - | Sulanan 1000 hektara düşen personel sayısı |

BULGULAR VE TARTIŞMA

Su Dağıtım Performansı

Sulama sahası birim alana dağıtılan yıllık sulama suyu miktarı (BADYSSM)

Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması için BADYSSM 7888.61 m³/ha ile 9859.57 m³/ha arasında değişmekte olup yıllara göre azalmıştır (Çizelge 7). BADYSSM'nin 2016 yılında maksimum olmasının nedeni sulama sezonunun normalden kurak geçmesi ve sulama alanının daha az olması ile ilişkilendirilebilir. Şengönül Aslan (2019), Yozgat ilindeki 6 sulama birliğinin 2011-2014 yılları arası BADYSSM'nin ortalama olarak 2728-11156.75 m³/ha arasında değiştiğini belirtmiştir. Chote (2022), İznik Boyalıca Pompaj Sulaması (4035 ha) performansını değerlendirdiği çalışmasında 2016-2020 yılları arası BADYSSM'nin 3601.2-6088.5 m³/ha değerleri arasında bulmuştur. Yavuz (2019), Kayseri ilindeki sulama birliklerine ait 2016-2018 yılları arasında BADYSSM'nin incelediğinde, en yüksek değeri 2018 yılında 8189 m³/ha ile Bahçelik Sulama Birliği, en düşük değeri ise 2017 yılında 1069 m³/ha ile Sarıoğlan Sulama Birliğinde hesaplamıştır. Önceki çalışmalarda elde edilen değerlerin araştırma alanında elde edilen değerleri kapsadığı görülmektedir.

Sulama şebekesinin birim sulanan alana dağıtılan yıllık sulama suyu miktarı (BSADYSSM)

Sulama alanında 2016-2018 yılları arasında BSADYSSM hesaplanarak Çizelge 7'de verilmiştir. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması için bu performans göstergesi değerleri yıllar geçtikçe hafif azalma eğilimi göstermiş ve ortalama 13202.42 m³/ha olarak belirlenmiştir. Diker (2018), Aşağı Seyhan Ovası'ndaki sulama sistemlerinde yaptığı çalışmada 2011-2015 yılları arasında BSADYSSM'nin maksimum 30174.28 m³/ha ve minimum 6485.38 m³/ha arasında bulmuş olup ortalama değeri 13304.75 m³/ha olarak belirlemiştir. Yürekli (2018) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, BSADYSSM 47.1-8762.8 m³/ha arasında hesaplanmıştır.

Sulama şebekesinin yıllık su temini oranı (YSTO) değeri

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasında 2016-2018 yılları arası hesaplanan YSTO değerleri 2016 yılında 1.70 ile maksimum, 2018 yılında ise 1.37 ile minimum olmuştur (Çizelge 7). Beyribey (1997), YSTO'nun 1'e eşit olmasının, sulama şebekesine ihtiyacı kadar su verildiğini, 1'den az olmasının, ihtiyacı karşılamadığını, 1'den büyük olmasının ise sulama şebekesine gereğinden fazla su saptırıldığını gösterdiğini belirtmiştir. Yapılan değerlendirmelere göre sulama şebekesine fazla su verildiği sonucuna ulaşılmıştır. Çakmak ve ark. (2009) tarafından Asartepe Sulama Birliği'nde YSTO'nun 0.99-2.05 arasında olduğu bulunmuştur. Yürekli (2018), Ereğli Sağ Sahil Sulama Birliği'nde 1.15-1.80 ve Kırnak ve Karaca (2017), Kayseri Sarıoğlan Sulama Birliği'nde yapılan çalışmalarda ise 0.9-1.1 arasında değiştiğini raporlamışlardır.

Sulama sahasında sulama oranı (SO) değeri

Sulama şebekesi için hesaplanan 2016 ile 2018 yılları arası sulama oranları Çizelge 7'de verilmiştir. Sulama oranı 2016 yılında %67.06 ile en yüksek değerde olup, diğer yılların ortalaması %65.65 olarak hesaplanmıştır. Yaklaşık olarak %35'lik kısımda sulama yapılmaması kuru tarımın

yoğunlukta olmasından kaynaklanabilir. Çizelge 6 incelendiğinde, bu göstergenin %50'den büyük olması iyi olarak sınıflandırılmıştır. Dolayısıyla Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması bu göstergeye göre iyi bir performansa sahiptir. Eski (2017), Niğde ilinde Gebere, Altunyurt, Postallı Sulama Birlikleri'nde yaptığı çalışmalarda sulama oranlarını sırasıyla %65, %73 ve %49 olarak bulmuştur. Konya ili Çumra Sulama Birliği'nde Kaya (2017) tarafından yapılan çalışmada 2012-2014 yıllarında sulama oranları sırasıyla %74, %76 ve %75 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 7. Su dağıtım performansı

| Yıllar | Sul. Sis. Gir. Top. Su Mik. (m ³ ×10 ³) | Sulama Alanı (ha) | Sulanan Alan (ha) | Top. Sul. Suyu İht. (m ³ ×10 ³) |
|--------|--|-------------------------------|-------------------|--|
| 2016 | 43461 | 4408 | 2956.00 | 25598 |
| 2017 | 37540 | 4435 | 2926.00 | 25781 |
| 2018 | 34986 | 4435 | 2897.15 | 25551 |
| Yıllar | BADYSSM (m ³ /ha) | BSADYSSM (m ³ /ha) | YSTO | SO (%) |
| 2016 | 9859.57 | 14702.64 | 1.70 | 67.06 |
| 2017 | 8464.49 | 12829.80 | 1.46 | 65.98 |
| 2018 | 7888.61 | 12076.01 | 1.37 | 65.32 |

Mali Performans

Sulama şebekesinde yatırımın geri dönüşüm oranı (YGDO) değeri

Araştırma alanı için 2016-2018 yılları arası YGDO hesaplanmış ve hesaplamada kullanılan verilerle birlikte Çizelge 8'de sunulmuştur. Buna göre YGDO 2016 yılında %71.65 ile en düşük olan değer, 2017 yılında en yüksek değer olan %93.46'ya ulaşmıştır. Araştırmada, performans değerlendirmesinde YGDO'nun %60-75 arasında olması "memnun edici", >%75 olması "iyi" olarak sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre, Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması YGDO'nun 2016 yılında "memnun edici", 2017 ve 2018 yıllarında da "iyi" seviyede olduğu söylenebilir. Kalender (2017), Konya Ilgın Ovası Pompaj Sulama Birliği'nin 2007-2015 yılları arasındaki değerlendirmesinde yatırımın geri dönüşüm oranını %42.5 ile %101.6 arasında bulmuştur. Önceki çalışmaya benzer sonuçların elde edildiği Cengiz (2019) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, Isparta-Acıpayam sulama şebekesinde yatırımın geri dönüşüm oranı %74-143 olarak bildirilmiştir. Beyribey (1997), yapmış olduğu çalışmada bu oranı mali yeterlilik oranı olarak adlandırmıştır. Devletin sorumluluğunda olduğu sulama sistemlerinde bu oranının %21-91 arasında olduğunu belirtmektedir.

Sulama şebekesinin birim alana düşen top. İşletme–bakım–yönetim masrafı (BADIYBYM)

Sulama şebekesinin 2016 ile 2018 yılları arası BADIYBYM hesaplanarak Çizelge 8'de verilmiştir. Yapılan hesaplamada yıllık ortalama BADIYBYM değeri 321.45 TL/ha olarak belirlenmiş ve yıllara göre düşük miktarlarda değişimler göstermiştir. Konya'da Ilgın Ovası Pompaj Sulama Birliği sulama performansının değerlendirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, 2007-2015 yılları arası için bu değer en düşük 146.86 TL/ha ve en yüksek 513.11 TL/ha olarak belirlenmiştir (Kalender, 2017). Kayadelen (2021) tarafından Mut Ovası Sulama Birliği'nde sulama sistemi performansının değerlendirildiği diğer bir çalışmada ise 7 yıllık ortalama BADIYBYM değeri 3207.5 TL/ha olarak bulunmuş, bu değer yüksek olması şebekenin bakımsız olması ile ilişkilendirilmiştir.

Sulama şebekesinin su dağıtımında istihdam edilen her bir kişiye düşen toplam masraf (SDİEHBKDTM) değeri

Sulama şebekesinin 2016-2018 yılları arası için belirlenen SDİEHBKDTM sonuçları hesaplamada kullanılan verilerle birlikte Çizelge 8'de sunulmuştur. Buna göre masraflar 2016 yılında 22426.07 TL/kişi ile minimum, 2018 yılında ise 33866.17 TL/kişi ile maksimum değerde olmuş ve yıllar içerisinde artış göstermiştir. Kalender (2017) sözü edilen toplam masrafı, en düşük 2615.4

TL/kişi ve en yüksek 31094.6 TL/kişi olarak belirlemiştir. Anderoğlu (2020) tarafından Anamur Sulama Birliği'nde 2012 ile 2018 yılları arasında yapılan çalışmada SDİEHBKDTM değerinin 22469.41 TL/kişi ile 50147.06 TL/kişi arasında olduğu bulunmuş olup, ilk değer 2012 yılına son değer ise 2018 yılına ait olduğu rapor edilmiştir.

Çizelge 8. Mali performans

| Yıllar | Kul. Top. Top. Su Ücr. (TL) | Kul. Dağ. Top. Su Mik. (m ³ x10 ³) | Top. İşl. - Bak. - Yön. Mas. (TL) | İşl. Bak. Per. Top. Mas. (TL) | İşl. Bak. İstih. Edil. Top. Per. Say. | Al. Ger. Top. Su Ücr. (TL) |
|--------|-----------------------------|---|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 2016 | 999445 | 43461 | 1394982 | 313965 | 14 | 1244017 |
| 2017 | 1245945 | 37540 | 1333183 | 294010 | 12 | 1499803 |
| 2018 | 1223797 | 34986 | 1540200 | 406394 | 12 | 1658003 |
| Yıllar | YGDO (%) | BADTİBYM (TL/ha) | SDİEHBKDT M (TL/kişi) | SÜTP (%) | BADÇPS | ŞABSSKEEOG (TL/m ³) |
| 2016 | 71.65 | 316.47 | 22426.07 | 80.34 | 3.2 | 0.02 |
| 2017 | 93.46 | 300.60 | 24500.83 | 83.07 | 2.7 | 0.03 |
| 2018 | 79.46 | 347.28 | 33866.17 | 73.81 | 2.7 | 0.03 |

Su ücreti toplama performansı (SÜTP)

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması 2016-2018 yılları SÜTP belirlenerek Çizelge 8'de verilmiştir. Çalışma alanı için en yüksek SÜTP %83.07 ile 2017 yılında ve en düşük ise %73.81 ile 2018 yılında belirlenmiş ve değerler yıllara göre değişkenlik göstermiştir. Bu sonuçlara göre, 2018 yılı "memnun edici", 2016 ve 2017 yılları da "iyi" seviyede sınıflandırılmıştır. Öztürk (2021), Antalya Boğaçay-Kırkgöz Sulama Birliği'nde 2017 ile 2020 yılları arasında yapmış olduğu performans analizinde su ücreti toplama oranını %70 ile %103.6 arasında belirlemiş, Turhan (2019), 2015-2017 yılları arasında Develi Ovası Sağ Sahil Sulama Birliği'ndeki çalışmasında çok düşük olarak %31-60 arasında bulmuştur. Sulama performansının değerlendirildiği diğer bir çalışmada, Kayahan (2019) Şanlıurfa Battalgazi Sulama Birliği'nde tahsilat oranını %64.10 olarak belirlemiştir.

Sulama şebekesinin birim alana düşen çalıştırılan personel sayısı (BADÇPS) değerleri

Sulama şebekesinin BADÇPS 2016 ile 2018 yılları arası belirlenerek değerler Çizelge 8'de verilmiştir. Personel sayısı birim alan için 2017 ve 2018 yılında aynı olup 2.7'dir. Bu değer 2016 yılında ise 3.2 olarak bulunmuştur. Personel sayısının 2016 yılında fazla, sulama alanının düşük olması bu değeri yükseltmektedir. Çizelge 6'ya göre sulanan 1000 ha alana düşen personel sayısının >3 olması "zayıf", <3 olması ise memnun edici olarak sınıflandırıldığından, 2016 yılındaki personel sayısı fazla olarak değerlendirilebilir. Ayrıca 333 ha'lık sulama alanına hizmet edecek olan kişi sayısının 1 olması gerektiği Bekişoğlu (1994) tarafından belirtilmiştir. Bu değer 2017 ve 2018 yıllarında yaklaşık olarak 370 ha, 2016 yılında ise 317 ha'dır. Bu yaklaşımda da 2017 ve 2018 yıllarındaki personel sayısı idealdir. Eliçabuk (2016), Konya-Gevrekli Sulaması performans değerlendirmesinde birim alanda çalıştırılan personel sayısını 1.7-2.5 kişi/1000 ha, Şengönül Aslan (2019), Yozgat ilindeki sulama birliklerinde bu değeri 1.09- 6.67 kişi/1000 ha olarak hesaplamışlardır.

Sulama sahasında şebekeye alınan birim sulama suyuna karşılık elde edilen ortalama gelir (ŞABSSKEEOG) değeri

Çizelge 8'de verilen ŞABSSKEEOG değerlerine göre, üç yıl için değerlerde büyük farklılıklar olmadığı görülmüş ve ortalama ŞABSSKEEOG 0.027 TL/m³ olarak hesaplanmıştır. Öztürk (2021) tarafından Antalya Boğaçay-Kırkgöz Sulama Birliği'nde yapılmış olan çalışmada bu değer 0.048-0.123 TL/m³ olarak bulunmuştur. Anderoğlu (2020) Anamur Sulama Birliği'nde bu performans göstergesi değerini 2012-2018 yıllarında 0.011-0.035 TL/m³ arasında olarak bildirmiştir.

Üretim Performansı

Sulama alanında yıllık toplam tarımsal üretim (YTTÜ)

Çalışma alanında 2016 ile 2018 yılları arasındaki YTTÜ miktarları ton biriminde Çizelge 9'da verilmiştir. Üretimin en çok yapıldığı yıl 2018 olup 129667.535 ton'dur. En az üretim ise 2016 yılında 94530.71 ton olarak gerçekleşmiştir. Yıllara göre toplam üretim artmıştır. Toplam üretimin 2016 yılında az olması sulanan alanın diğer yıllara göre az olması ile ilişkilendirilebilir. Yıllara göre bitkisel üretime bakıldığında bütün yıllarda en fazla üretimin mısır silajında olduğu, 2016 ve 2017 yıllarında en az üretimin susamda, 2018 yılında ise en az üretimin bostanda gerçekleştiği görülmektedir. Şekerpancarı sadece 2016 yılında yetiştirilirken, susam ise sadece 2018 yılında yetiştirilmemiştir. Tarımsal üretim değerlerindeki değişim, bitkilerin ekiliş oranları ve ortalama verim değerlerine bağlanabilir. Cengiz (2019) tarafından 2007-2018 yılları arasında Isparta-Acıpayam Sulama Birliği'nde YTTÜ miktarının ortalaması 94078 ton bulunmuştur. Eliçabuk (2016), Konya Gevrekli Sulaması 2008-2013 yılları arası performans değerlendirmesinde üretim miktarının maksimum 230952 ton, minimum ise 152748 ton olarak gerçekleştiğini bildirmiştir. Karataş Sulama Birliği'nde 2015-2019 yılları arası sonuçlara göre, en yüksek 248037.56 ton, en düşük 14559.11 ton ve Karaçal Sulama Birliği'nde en yüksek 44257.45 ton, en düşük 10596.5 ton olarak tarımsal üretim gerçekleştiği belirlenmiştir (Abdisamad, 2021).

Çizelge 9. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasında YTTÜ

| Ürün | Her Bitkiden Elde Edilen Toplam Üretim (kg) | | | YTTÜ (ton) |
|-----------------|---|-----------|------------|------------|
| | 2016 | 2017 | 2018 | |
| Şekerpancarı | 19000 | - | - | 19 |
| Baklagiller | 125650 | 137200 | 530550 | 793.4 |
| Bostan | 314000 | 199600 | 29100 | 542.7 |
| Susam | 160 | 80 | - | 0.24 |
| Silajlık Mısır | 78624000 | 98677500 | 102085000 | 177403.585 |
| Her Çeşit Meyve | 8000 | 1393800 | 1138650 | 2540.45 |
| Her Çeşit Sebze | 11812000 | 11739500 | 21120000 | 44671.5 |
| Soğan, Sarımsak | 14400 | 26700 | 57360 | 98.46 |
| Yem Bitkileri | 3632500 | 4488370 | 4706875 | 12827.745 |
| Toplam (ton) | 94530.71 | 116662.75 | 129667.535 | 238.87808 |

Sulama sahası yıllık toplam tarımsal üretim değeri (YTTÜD)

Araştırma sahasında 2016-2018 yılları arasındaki YTTÜD her bitkiden elde edilen toplam ürün miktarının ürünün o yılki satış fiyatıyla çarpılarak hesaplanmasıyla bulunmuş ve Çizelge 10'da verilmiştir. En yüksek değer 2018 yılında 43536755 TL, en düşük değer ise 2017 yılında 34099273 TL olarak belirlenmiştir. Yıllara göre bakıldığında 2016 ile 2018 yıllarında üretim değeri birbirine yakın, 2017 yılında ise daha düşük olmuştur. Bunun sebebi yıllara göre satış fiyatının değişkenliğine bağlanabilir. Örneğin her çeşit sebzenin kg satış fiyatı 2016 yılında 2.2 TL, 2017 yılında 1.0 TL, 2018 yılında ise 0.65 TL'dir. Sebze satış fiyatının 2016 yılında diğer yıllara göre yüksek olmasına ekiliş oranının da (%20) fazla olması eklenince yıllık toplam tarımsal üretimin de yüksek olması kaçınılmaz olmuştur. En yüksek tarımsal üretim değeri yıllara göre, 2016 yılında her çeşit sebze, 2017 yılında silajlık mısır, 2018 yılında ise yem bitkilerinde görülmektedir. Eliçabuk (2016), Gevrekli Sulaması'nda bu değeri 21225000-38898000 TL arasında bulmuş ve Şengönül Aslan (2019), Esenli Sulama Birliği için en düşük 8992.47 TL, en yüksek ise 118522.403 TL olarak belirtmiştir.

Sulama alanında birim sulama alanına karşılık elde edilen gelir (BSAKEEG) değeri

Sulama şebekesinde BSAKEEG değerleri 2016-2018 yılları arasındaki yıllık toplam tarımsal üretim değerinin sulama alanına oranı ile bulunarak Çizelge 10'da verilmiştir. Buna göre en yüksek

değer 2016 yılında 9830.13 TL/ha olup en düşük değer 2017 yılında 7688.67 TL/ha olarak belirlenmiştir. Karşılaşılan yıllara göre değişkenlikler, şebekeye saptırılan su miktarı ve verimdeki farklılıklarla bağlantılı olabilir (Şengönül Aslan, 2019). Kayadelen (2021) tarafından Mut Ovası Sulama Birliği'nde yapılan çalışmada BSAKEEG değerinin 4613.5 TL/ha ile 5328.59 TL/ha arasında değiştiği bildirilmiştir. Benzer bir şekilde Eliçabuk (2016), Gevrekli Sulaması 2008-2013 yılları arası performans analizinde 2008 yılında 1679.2 TL/ha 2013 yılında ise 3032 TL/ha bulmuştur. Şener ve Kurç (2012), BSAKEEG değerinin yüksek bulunmasının yüksek sulama oranı ve bitki ekonomik değeriyle ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Sulama alanında sulanan birim alana karşılık elde edilen gelir (SBAKEEG) değerleri

Sulama alanı için 2016-2018 yılları arası hesaplanan SBAKEEG değerleri Çizelge 10'da verilmiştir. Yapılan hesaplama göre minimum değer 11769.64 TL/ha ile 2017 yılında, maksimum değer ise 2016 yılında 14809.03 TL/ha olarak elde edilmiştir. SBAKEEG değeri 2018 yılı için 14728.27 TL/ha olarak belirlenmiş ve bu değer 2016 yılı için belirlenen değere yakın olduğu görülmüştür. Çalışmada, 2017 yılında karşılaşılan düşüşe ekiliş oranları ve yıllara göre ürünlerin satış fiyatındaki farklılıklar sebep olarak gösterilebilir. Ateşal (2022), 2016-2020 yılları arasında Akıncı Ovası Sulama Birliği için yapmış olduğu çalışmada SBAKEEG değerini en az 3641.36 TL/ha ve en çok ise 11883.80 TL/ha olarak bulmuştur.

Sulama alanında şebekeye alınan birim sulama suyuna karşılık elde edilen gelir (ŞABSSKEEG)

ŞABSSKEEG değerlerinin yıllara göre değişimi Çizelge 10'da sunulmuştur. Yapılan çalışmada en düşük ŞABSSKEEG değeri 2017'de 0.91 TL/m³ olarak bulunurken, en yüksek değer 2018 yılında 1.24 TL/m³ olarak belirlenmiştir. Şengönül Aslan (2019), Sekili Sulama Birliği'nde 2011-2014 yılları arasında yapmış olduğu çalışmada ŞABSSKEEG değerini 0.11-0,56 TL/m³, Ateşal (2022), 2016-2020 yılları arasında Akıncı Ovası Sulama Birliği'nde minimum değeri 0.22 TL/m³, maksimum değeri 0.68 TL/m³ olarak bildirmişlerdir.

Çizelge 10. Üretim performansı

| Ürün | YTTÜD (TL) | | | BSAKEEG (TL/ha) | | |
|-----------------|-----------------|----------|-----------|--------------------------------|---------|---------|
| | 2016 | 2017 | 2018 | 2016 | 2017 | 2018 |
| Şekerpancarı | 57000 | - | - | 12.93 | - | - |
| Baklagiller | 62825 | 164640 | 450967.5 | 14.25 | 37.12 | 101.68 |
| Bostan | 59660 | 119760 | 29100 | 13.53 | 27.00 | 6.56 |
| Susam | 864 | 432 | - | 0.20 | 0.10 | 0.00 |
| Silajlık Mısır | 14938560 | 14801625 | 20417000 | 3388.97 | 3337.46 | 4603.61 |
| Her Çeşit Meyve | 17600 | 3623880 | 1707975 | 3.99 | 817.11 | 385.11 |
| Her Çeşit Sebze | 25986400 | 11739500 | 13728000 | 5895.28 | 2647.01 | 3095.38 |
| Soğan, Sarımsak | 28800 | 58740 | 143400 | 6.53 | 13.24 | 32.33 |
| Yem Bitkileri | 2179500 | 3590696 | 7060312.5 | 494.44 | 809.63 | 1591.95 |
| Toplam | 43331209 | 34099273 | 43536755 | 9830.13 | 7688.67 | 9816.63 |
| Ürün | SBAKEEG (TL/ha) | | | ŞABSSKEEG (TL/m ³) | | |
| | 2016 | 2017 | 2018 | 2016 | 2017 | 2018 |
| Şekerpancarı | 19.48 | - | - | 0.001 | - | - |
| Baklagiller | 21.47 | 56.83 | 152.56 | 0.001 | 0.004 | 0.013 |
| Bostan | 20.39 | 41.34 | 9.84 | 0.001 | 0.003 | 0.001 |
| Susam | 0.30 | 0.15 | - | - | - | - |
| Silajlık Mısır | 5105.45 | 5109.03 | 6906.97 | 0.344 | 0.394 | 0.584 |
| Her Çeşit Meyve | 6.02 | 1250.84 | 577.80 | - | 0.097 | 0.049 |
| Her Çeşit Sebze | 8881.20 | 4052.09 | 4644.11 | 0.598 | 0.313 | 0.392 |
| Soğan, Sarımsak | 9.84 | 20.28 | 48.51 | 0.001 | 0.002 | 0.004 |
| Yem Bitkileri | 744.87 | 1239.39 | 2388.47 | 0.050 | 0.096 | 0.202 |
| Toplam | 14809.03 | 11769.94 | 14728.27 | 1.00 | 0.91 | 1.24 |

SONUÇ

Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasında BADISSM 2016-2018 yılları için 7888.61-9859.57 m³/ha olarak belirlenmiş ve yıllara göre azalmıştır. Buna sebep olarak, bitki desenine bakıldığında toplam sulama suyu ihtiyacı fazla olan bitkilerin 2018 yılına doğru gidildikçe azalması, kuru tarım oranının artması gösterilebilir. BSADISSM, yıllar geçtikçe hafif azalma eğilimi göstermiş ve ortalama 13202.42 m³/ha olarak belirlenmiştir. YSTO, 1.46-1.70 arasında bulunmuş ve sulama şebekesine fazla su verildiği sonucuna varılmıştır. Ancak birlik çalışanları ile yapılan görüşmelerde sulama sisteminde kapalı sistemin asbest borularla yapılmış olması ve asbest boruların şu anda üretilmemesinden dolayı borulardaki bakımın geçici çözümlerle yapılmasıyla kanallardan oluşan sızmaların çok olduğu söylenmiştir. Bu sonuca bağlı olarak ihtiyaçtan fazla su verilmiş olabilir. Sulama oranı ortalaması %65.65 olarak bulunmuştur. DSİ kriterlerine göre sulama oranının %60'ın üzerinde olması sulama yönetimi bakımından olumlu değerlendirilmiştir. Bu sonuca göre sulama oranı göstergesi bakımından başarılı bir performans sağlanmıştır.

YGDO, %71.60-93.46 arasında belirlenmiştir. Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulaması için YGDO'nun 2016 yılında "memnun edici", 2017 ve 2018 yıllarında da "iyi" seviyede olduğu söylenebilir. BADISSM ortalama değeri 321.45 TL/ha olarak hesaplanmıştır. SDIEHBKDTM, 2016 yılında 22426.07 TL/kişi ile minimum, 2018 yılında ise 33866.17 TL/kişi ile maksimum değerde olmuştur. SÜTP %73.81-83.07 olarak belirlemiş, 2018 yılı için "memnun edici", 2016 ve 2017 yıllarında "iyi" seviyede sınıflandırılmıştır. Birim alana düşen personel sayısı, 2017 ve 2018 yıllarında aynı olup 2.7 kişi/1000 ha, 2018 yılında ise 3.2 kişi /1000 ha olarak bulunmuş ve elde edilen bu sonuçların performans bakımından olumsuz olmadığı sonucuna varılmıştır. ŞABSSKEEOG değerlerinde yıllara göre büyük farklılıklar olmadığı belirlenmiş ve ortalama 0.027 TL/m³ olarak hesaplanmıştır.

Yıllık toplam tarımsal üretim 94530.71-129667.535 ton olarak gerçekleşmiş ve yıllara göre artış göstermiştir. Yıllık toplam tarımsal üretim değeri ise 34099273-43536755 TL olarak hesaplanmıştır. Çalışmada BSAKEEG, 7688.67-9830.13 TL/ha olarak belirlenmiştir. BSAKEEG değerinin yüksek bulunması, yüksek sulama oranı ve bitki ekonomik değeriyle ilişkilendirilebilir. BSAKEEG en düşük değeri 11769.64 TL/ha ile 2017 yılında, en yüksek değeri ise 2016 yılında 14809.03 TL/ha olarak belirlenmiş ve önceki çalışma sonuçlarına göre yüksek olduğu görülmüştür. ŞABSSKEEG, en düşük 2017 yılında 0.91 TL/m³ olarak bulunurken, en yüksek değer 2018 yılında 1.24 TL/m³ olarak bulunmuş ve önceki yapılan çalışmalara göre yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, Pamukçu ve Aslıhantepecik Ovası Sulamasının performans açısından başarılı olduğu söylenebilir. Ancak bakım-onarım konusunda eksiklikler bulunmaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmada ihtiyaç duyulan verilerin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Balıkesir Sulama Birliği Müdürü Sayın Erol CANLI başta olmak üzere tüm birlik yetkilileri ve çalışanları ile DSİ 25. Bölge Müdürlüğü'ne çok teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Abdisamad, A.Q. (2021). *Karataş Sulama Birliği Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Akçay, S. M. (2007). *Aşağı Büyük Menderes Havzası Sulama Şebekelerinin Devir Sonrası Performanslarının Belirlenmesi* (Doktora tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Anderoğlu, R. (2020). *Anamur Sulama Birliği'nde Sulama Performansının Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Anonim, (1983). Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü Çaygören (Menent) Projesi İkizcetepeler Barajı Sulaması Planlama Arazi Sınıflandırma Raporu, Ankara.
- Anonim, (1987). Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü Çaygören II. Aşama Projesi Planlama Revizyon Raporu, Ankara.
- Anonim, (2003). Birleşmiş Milletler istatistikleri. URL: [http://www.unwater.org/statistics res.html](http://www.unwater.org/statistics/res.html)
- Anonim, (2016). Devlet Su İşleri 25. Bölge Müdürlüğü, Balıkesir.
- Anonim, (2016a). Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması Mahsul Sayım Sonuçları Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, İşletme Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Anonim, (2016b). Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması İzleme ve Değerlendirme Raporu, Planlı Su Dağıtım Uygulama Raporu Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, İşletme ve Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Anonim, (2017a). Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması Mahsul Sayım Sonuçları Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, İşletme Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Anonim, (2017b). Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması İzleme ve Değerlendirme Raporu, Planlı Su Dağıtım Uygulama Raporu Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, İşletme ve Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Anonim, (2018a). Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması Mahsul Sayım Sonuçları Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, İşletme Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Anonim, (2018b). Pamukçu ve Aslıhantepecik Sulaması İzleme ve Değerlendirme Raporu, Planlı Su Dağıtım Uygulama Raporu Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, İşletme ve Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Ateşal, K. (2022). *Akıncı Ovası Sulama Birliğinin Sulama Performansının Değerlendirmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Bekişoğlu, Ş. (1994). Türkiye'deki sulama sistemlerinin mevcut durumu, işletme ve bakım sorunları. Su ve Toprak Kaynaklarının Geliştirilmesi Konferans Bildirgeleri Cilt 2 (s. 579-586). Ankara: Bayındırlık ve İskan Bakanlığı, DSİ Genel Müdürlüğü.
- Benli, B., ve Beyribey, M. (1998). Eskişehir Sulaması sağ sahil sulama alanında sistem performansının değerlendirilmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 4(1), 26-32.
- Beyribey, M. (1997). Devlet sulama şebekelerinde sistem performansının değerlendirilmesi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayın No: 1480, Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler: 813, Ankara.
- Beyribey, M., Sönmez F. K., Çakmak, B., ve Oğuz, M. (1997). Devlet sulama şebekelerinde aylık su temini oranının belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 3(2), 33-37.
- Cengiz, A. (2019). *Acıpayam Sulama Birliği Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Chote, B. H. (2022). *Boyalıca Pompaj Sulamasında Sulama Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Çakmak, B., Kendirli, B., & Polat, E. H. (2009). Evaluation of irrigation performance of Asartepe Irrigation Association: A case study from Turkey. *Journal of Akdeniz University Agricultural Faculty*, 22(1), 1-8.
- Diker, C. (2018). *Aşağı Seyhan Ovası Sulama Birliklerinin Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- DSİ, (2021). Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü 2021 Faaliyet Raporu, Ankara.
- Eliçabuk, C. (2016). *Konya-Gevrekli Sulamasında Performans Değerlendirmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>

- Eski, E. Ç. (2017). *Niğde İli Sulama Birliklerinde Sulama Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Kalender, M. A. (2017). *İlgün Ovası Pompaj Sulama Birliğinde Sulama Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Kaya, N. (2017). *Konya İli Sulama Birliklerinin Tarımsal Sulama İşletmeciliğindeki Yeri, Çumra Sulama Birliği Örneği* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Kayadelen, M. (2021). *Mut Ovası Sulama Birliğinin Sistem Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Kayahan, G. B. (2019). *Fırat Havzası, Şahnahan Ovası'nda Battalgazi Sulama Birliği'nin Sulama Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Kırnak, H., ve Karaca, L. (2017). Sarioğlan Sulama Birliği sahasında sulama performansının değerlendirilmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 6(BSM-2017), 35-41.
- Malano, H., & Burton, M. (2001). Guidelines for benchmarking performance in the irrigation and drainage sector. Rome: IPTRID secretariat, FAO.
- MGM, (2020). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü uzun yıllar iklim verileri (1999-2019), Balıkesir.
- Molden, D. J., & Gates, T. K. (1990). Performance measures evaluation of irrigation water-delivery systems. *Journal of irrigation and Drainage Engineering*, 116(6), 804-823.
- Nalbantoğlu, G. (2006). *Akıncı Sulama Birliğinde Sulama Performansının Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Öztürk, E. (2021). *Antalya Boğaçay-Kırkgöz Sulama Birliği'nin Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Şener, M., ve Kurç, H.C. (2012). Karşılaştırmalı göstergeler kullanılarak Kırklareli sulama şebekesinin performansının değerlendirilmesi. In: II. Ulusal Sulama ve Tarımsal Yapılar Sempozyumu. H. B. Ünal, E. Akkuzu, Y. S. Kukul Kurttaş ve U. Tunalı (Ed.), Cilt I (s. 419-426), İzmir.
- Şengönül Aslan, G. (2019). *Yozgat İlindeki Bazı Sulama Birliklerinin Karşılaştırmalı Performans Değerlendirmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Turhan, B. (2019). *Develi Ovası Sağ Sahil Sulama Birliğinde Sulama Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- TÜİK, (2021). Nüfus verileri. URL: <http://data.tuik.gov.tr/search/search?text=nüfus>
- Vermillion, D. (2000). Guide to monitoring and evaluation of irrigation management transfer. USA: International Network on Participatory Irrigation Management.
- Yavuz, T. (2019). *Kayseri İli Sulama Birliklerinin 2016-2018 Yılları Arası Performans Analizi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Yürekli, H. (2018). *Ereğli İvriz Sağ Sahil Sulama Birliğinde Sulama Performansının Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>

Atf İçin: Yaşa, İ. ve Partal, T. (2024). Türkiye'nin Güneydoğu Bölgesinde Kuraklık Şiddetinin Trend Analizi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 681-695.

To Cite: Yaşa, I. & Partal, T. (2024). Trend Analysis of Drought Severity in Southeast Region of Türkiye. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 681-695.

Türkiye'nin Güneydoğu Bölgesinde Kuraklık Şiddetinin Trend Analizi

İslam YAŞA^{1*}, Turgay PARTAL¹

Öne Çıkanlar:

- SPI ile kuraklık analizi yapıldı
- SPI değerlerinden kuraklık şiddetleri hesaplandı
- Kuraklık şiddeti serisine MK ve ITA trend testleri uygulandı
- Mardin ilinde tüm dönemlerde kuraklık artışı tespit edildi

Anahtar Kelimeler:

- Kuraklık analizi
- Trend analizi
- Kuraklık şiddeti
- Standart Yağış İndeksi
- Yenilikçi Eğilim Analizi
- Mann-Kendall

ÖZET:

İklim değişikliğinin neden olduğu pek çok sorundan biri olan kuraklığın incelenmesi, su kullanımının ve su kaynaklarının planlanmasını sağlar. Kuraklık parametrelerinden biri olan kuraklık şiddetinin artışı veya azalışı kuraklıktan dolayı ortaya çıkabilecek sonuçların önceden tespiti açısından önemli bir bilgi kaynağıdır. Bu çalışmada, 1960'tan 2022'ye kadar Dicle Nehri havzasındaki dört istasyonun uzun süreli yağış verilerini kullanarak Standart Yağış İndeksi (SPI) ile 1-, 3-, 6-, 9- ve 12-aylık zaman periyotları için kuraklık analizi yapılmıştır. Kuraklık süresi ve şiddeti serileri kuraklık indeks değerlerinden elde edilmiş ve kuraklık şiddet serilerinin eğilimleri Mann-Kendall (MK) ve Yenilikçi Eğilim Analizi (ITA) testleri ile hesaplanmıştır. Sonuçlara göre ITA testi MK testine nazaran kuraklık şiddeti serilerindeki eğilimlerin tespitinde daha hassas olduğu görülmüştür. MK testine göre kuraklık önemli bir artış veya azalış göstermemiştir. Buna karşılık, ITA testine göre kuraklık Siirt ve Batman istasyonlarında sırasıyla 1-ve 12-aylık, Diyarbakır istasyonunda ise 1- ve 12 aylık ölçeklerde artış göstermiştir. Mardin istasyonunda tüm zaman dilimlerinde kuraklık artış göstermiştir.

Trend Analysis of Drought Severity in Southeast Region of Türkiye

Highlights:

- Drought analysed with SPI
- Drought severity was calculated from SPI values
- MK and ITA trend tests were applied to the drought severity series
- Increased drought was detected in all periods in Mardin

Keywords:

- Drought analysis
- Trend analysis
- Drought severity
- Standard Precipitation Index
- Innovative Trend Analysis
- Mann-Kendall

ABSTRACT:

The study of drought, one of the many problems caused by climate change, enables the planning of water use and water resources. The increase or decrease in drought severity, which is one of the drought parameters, is an important source of information in terms of predetermining the consequences that may arise due to drought. In this study, drought analysis was conducted for 1-, 3-, 6-, 9- and 12-month time periods with the Standard Precipitation Index (SPI) using long-term precipitation data of four stations in the Tigris River basin from 1960 to 2022. Drought duration and severity series were obtained from drought index values, and the trends of drought severity series were calculated with Mann-Kendall (MK) and Innovative Trend Analysis (ITA) tests. According to the results, the ITA test was found to be more sensitive in detecting trends in drought severity series compared to the MK test. According to the MK test, drought did not show a significant increase or decrease. On the other hand, according to the ITA test, drought increased at 1- and 12-month scales at Siirt and Batman stations, respectively, and at 1- and 12-month scales at Diyarbakır station. Drought increased in all time periods at Mardin station.

¹İslam YAŞA (Orcid ID: 0000-0002-4809-9471), Turgay PARTAL (Orcid ID: 0000-0002-3779-441X), Ondokuz Mayıs University, Faculty of Engineering, Department of Civil Engineering, Samsun, Türkiye

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: İslam YAŞA, e-mail: islam.yasa@omu.edu.tr

INTRODUCTION

Drought is one of the extreme climatic conditions caused by extreme meteorological and hydrological events. There are many definitions for drought (McKee et al., 1993; Palmer, 1965; Redmond, 2002; Wilhite, 2000a, 2000b; Wilhite et al., 1985). Drought is generally defined as a long-term dry conditional that causes hydrological imbalance in a region (Eslamian et al., 2017). Predicting drought is vital for planning to combat it. For this reason, drought indices, of which there are many nowadays, are frequently used drought calculators by researchers. Drought calculators give certain parameters for drought: severity, peak, duration, and frequency (Xu, et al. 2015; Dikici, 2020). Changes in drought parameters are useful for monitoring drought.

Trend analysis is often used to analyses and interpret the evolution of hydro-meteorological data precipitation (Coşkun, 2020; Jain et al., 2012; Partal et al., 2006; Pastagia et al., 2022), temperature (Banda et al., 2021; Citakoglu et al., 2021; Ercan et al., 2017; Salami et al., 2014; Şen, 2014; Tokgöz et al., 2020), streamflow (Eriş et al., 2012; Şen, 2017; Umar et al., 2022), humidity (Gümüş et al., 2023; Vincent et al., 2007), evapotranspiration (Aksu et al., 2010; Katipoğlu, 2022; Phuong et al., 2020) data in Turkey and the world. The Mann-Kendall (MK) test is a widely used test in the literature for detecting a monotonic trend in a series. When identifying trends with low, medium, and high values from a data set, the Innovative Trend Method (ITA) is an even stronger instrument than the MK test. ITA, which is frequently used in hydro-meteorological data sets such as streamflow, temperature, solar radiation, and precipitation, is also used in trend detection of drought parameters (Caloiero, 2018; Deger et al., 2023; Gumus et al., 2023).

In recent years, the trends of drought index values and drought parameters in Turkey and the world have been analyzed using different trend techniques. Considering the most recent studies in 2023; Gumus (2023) divided the data between 1965-2020 in 8 stations in the Tigris basin of Turkey into three parts as the first, second and third periods. It calculated the trends of drought characteristics calculated in 3-, 6-, and 9-month time scales of their Standardized Precipitation Index with ITA. Achite (2023) investigated the temporal behavior of meteorological droughts with the Standardized Precipitation Index (SPI) index and hydrological droughts with the Standardized Runoff Index (SRI) index at different scales (1-, 3-, 6-, 9-, 12-, and 24-month) in the Wadi Ouahrane basin of northern Algeria with ITA, MK, Modified Mann–Kendall test (MMK), and Theil-Sen estimator (SS) tests. Their conclusion was that the SS test showed negative values, but the MK test did not show significant trends. This result explains the stable conditions of drought in that region. Deger (2023) computed hydrological droughts at 7 stations in the Kızılırmak basin at five different time scales (1-, 3-, 6-, 9-, and 12-month) with the SDI index and analysed the changes in index values series with the ITA method and concluded that a trend was observed at all time scales and this trend was mostly decreasing.

Analyses of drought parameters have gained significance due to the complex form of drought. Therefore, in this study, SPI drought index values were calculated from precipitation data of four meteorological stations located in the southeast of Türkiye, which is relatively drier than other regions. Drought severity series were obtained as the sum of the index values of dry months. Trend analysis of drought severity series was examined with Mann-Kendal (MK), which is widely used in the literature, and Innovative Trend Analysis (ITA), which is a relatively new method. The decreasing or increasing trend of drought series gives information about the temporal change of the severity of drought events. This represents the change of drought in the region.

MATERIALS AND METHODS

Study Area

This study includes the central stations of Batman, Diyarbakır, Mardin and Siirt, which are important agricultural cities of the Tigris River basin. These cities are also included in the scope of the Southeast Anatolia Project (GAP), which enables the development of the region through the utilization of resources and creates economic opportunities for the people living in the region by developing the region. The Tigris River originates in Turkey, passes through Iraqi territory, and flows into the Persian Gulf. The river has an approximate length of 1900 km and an average flow rate of $490 \text{ m}^3/\text{s}$ (Zeybek, at al. 2016; Şen, 2019).

Figure 1 shows the study area. The stations are located as Siirt in the east, Diyarbakır in the west, Mardin in the south, and Batman between these three cities. Considering the altitudes of the stations above sea level, the highest station is Mardin (17275) with 1020 m and the lowest station is Batman (17282) with 620 m.

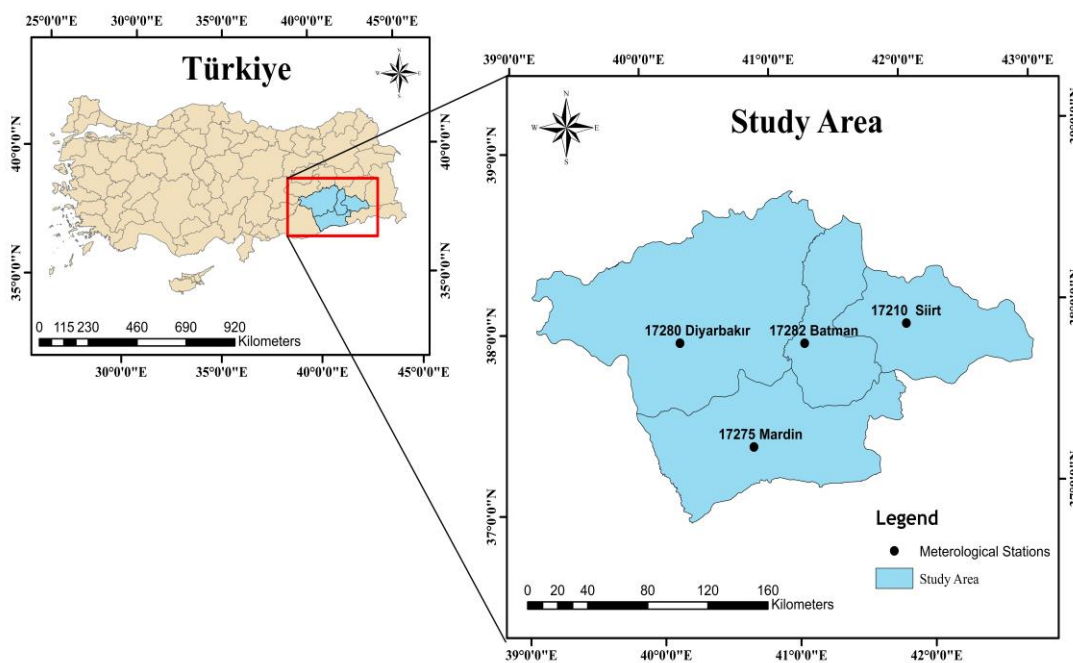


Figure 1. Study area

Table 1 contains information about the stations. The data in all stations are between 1960 and 2022. The station with the highest average annual total precipitation between these years is Siirt, with 690.04 mm, and the station with the lowest average annual precipitation is Batman, with 485.7 mm.

Table 1. Information of stations

| Station | Earliest Record Year | Latest Record Year | Altitude above sea level (m) | Latitude | Longitude | Annual Mean Precipitation (mm) | Standard Deviation |
|------------------|----------------------|--------------------|------------------------------|----------|-----------|--------------------------------|--------------------|
| 17210-Siirt | 1960 | 2022 | 895 | 37.9319 | 41.9354 | 690.04 | 171.18 |
| 17275-Mardin | 1960 | 2022 | 1020 | 37.3103 | 40.7284 | 658.17 | 218.17 |
| 17280-Diyarbakır | 1960 | 2022 | 675 | 37.9094 | 40.2133 | 487.28 | 128.94 |
| 17282-Batman | 1960 | 2022 | 620 | 37.8636 | 41.1562 | 485.70 | 130.99 |

Figure 2 shows the change in the annual total precipitation of the stations according to years. While the maximum annual total precipitation in Siirt and Mardin stations reached up to 1200 mm, the

maximum annual total precipitation in Diyarbakır and Batman stations reached approximately 750-800 mm. In 2021, it can be said that less precipitation was observed in the stations compared to other years.

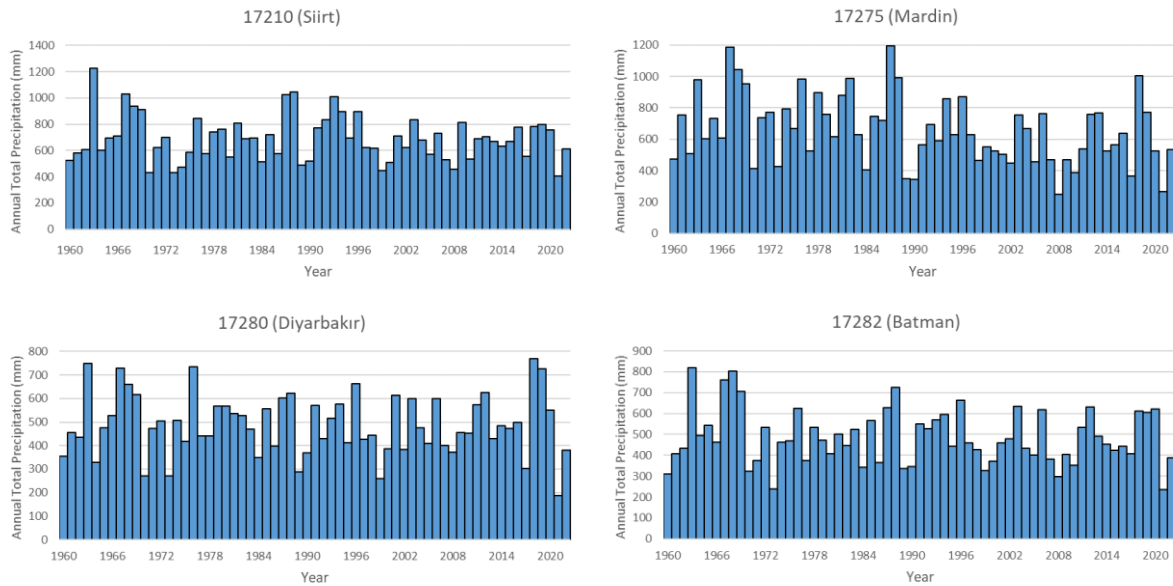


Figure 2. Change in the annual total precipitation of the stations

Homogeneity analysis

Homogeneity analysis is a data security check that is used to test two or more variables against the existing data set, to detect data that do not fit the data set, and to locate variables that do not fit the data set (Elzeiny et al., 2019; Yıldırım et al., 2022). Homogeneity analysis is essential before hydro-meteorological analyses and statistical analyses on meteorological data. In this study, Pettitt (Pettitt, 1979), Standard Normal Homogeneity (SNHT) (Alexandersson, 1986), Buishand (Buishand, 1982) and Von-Neuman (Von-Neumann, 1941) tests, commonly used in climate studies and known as absolute methods, were used to investigate homogeneity. With the help of these studies (Aksu et al., 2022; Kocaoğlu, E., & Çağliyan, 2022), which include the details and formulation of these methods, information about the methods can be obtained. The confidence interval of these tests used in the study was accepted as 95%.

Standard precipitation index (SPI)

A common drought index used in drought calculations is SPI, which was established by (McKee et al., 1993). It bases its estimations only on long-term precipitation data. Both short-term (1- and 3-months) and long-term (6-, 9-, and 12-months) drought predictions can be generated via it. The value of each month in the dataset is determined by a new average value from previous months for these scales. The formula 1 defines the SPI method's formulation.

$$SPI = (P_{ij} - \mu) / \sigma \quad (1)$$

Where, P_{ij} represents the monthly precipitation at the i th at the j th observation, μ represents the mean of long-term precipitation, and σ represents the standard deviation.

Thom (1958) showed that the gamma function fits precipitation. Gamma distribution frequency $g(x)$ as given by the equation 2.

$$g(x) = \frac{x^{\alpha-1} e^{-x/\beta}}{\beta^{\alpha} \Gamma(\alpha)}, \quad \text{where } x, \alpha, \beta > 0 \quad (2)$$

$$(3)$$

$$\Gamma(\alpha) = \int_0^{\infty} y^{\alpha-1} e^{-y} dy$$

Where α is the shape parameter, β is the scale parameter, x is the amount of rainfall, and $\Gamma(\alpha)$ is Gamma function.

As following formulas, the optimal values of α and β are estimated. where n is the total number of observations of precipitation, the precipitation amount, x , and the average precipitation, \bar{x} .

$$\begin{aligned} \alpha &= \frac{1 + \sqrt{1 + \frac{4A}{3}}}{4A} \\ \beta &= \frac{\bar{x}}{\alpha} \\ A &= \ln(\bar{x}) - \frac{\sum \ln(x)}{n} \end{aligned} \quad (4)$$

The cumulative probability for a specific month can be calculated using the following equations (Alsancar, et al. 2022).

$$G(x) = \int_0^x g(x) dx = \frac{1}{\beta^\alpha \Gamma(\alpha)} \int_0^x x^{\alpha-1} e^{-x/\beta} dx \quad (5)$$

$$\begin{aligned} H(x) &= q + (1 - q)G(x) \\ q &= m/n \end{aligned} \quad (6)$$

$$\begin{aligned} SPI &= S \left(t - \frac{c_0 + c_1 t + c_2 t^2}{1 + d_1 t + d_2 t^2 + d_3 t^3} \right), \\ \{ c_0 &= 2.515517, c_1 = 0.802853, c_2 = 0.020328 \} \\ \{ d_1 &= 1.432788, d_2 = 0.189269, d_3 = 0.001308 \} \end{aligned} \quad (7)$$

$$t = \begin{cases} \sqrt{\ln\left(\frac{1}{H(x)}\right)^2}, & 0 < H(x) \leq 0.5 \\ \sqrt{\ln\left(\frac{1}{1-H(x)}\right)^2}, & 0.5 < H(x) \leq 1 \end{cases} \quad (8)$$

Where m is numbers of zero precipitations, c_0, c_1, c_2 and d_0, d_1, d_2 are the constants, and $H(x)$ is cumulative probability. If $H(x) > 0.5$ then S is 1, else S is -1. $H(x)$ is then converted into a standard normal random variable Z , with mean zero and variance one. which is the value of the SPI.

Negative index values in SPI represent drought and positive index values represent humidity. Figure 3 shows the change of index values over time. Dry periods are when the index values go below zero. The time from the beginning to the end of the dry period is called drought duration, and the cumulative sum of the index values during this period is called drought severity (McKee et al., 1993; Mishra et al., 2010).

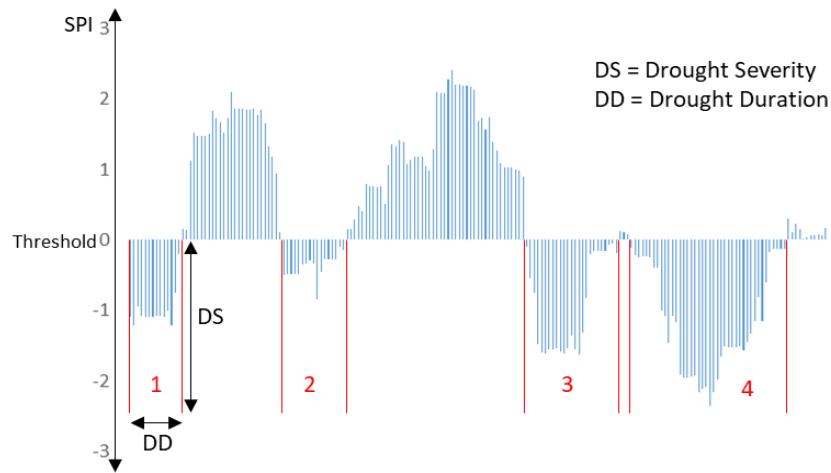


Figure 3. Definition of drought characteristic

Mann-Kendall (MK) test

A nonparametric test Mann-Kendall (MK), also known as the Kendall tau statistic, was developed by x and y. This test, also proposed by World Meteorological Organization (WMO), checks for a trend in a series. The time series to be checked for the trend is $x_1, x_2, x_3 \dots x_n$, pairs x_i and x_j are divided into two groups and the test statistic S is calculated as follows;

$$S = P - M \tag{9}$$

Where for $i < j$, P is the number of $x_i < x_j$ pairs and M is the number of $x_i > x_j$ pairs.

$$\tau = S / [n(n - \frac{1}{2})] \tag{10}$$

Equations 10 represents the Kendall correlation coefficient. For $n \geq 10$ variance (σ_s);

$$\sigma_s = \sqrt{\frac{n(n - 1)(2n + 5)}{18}} \tag{11}$$

Since z is the Mann-Kendall standard test parameter;

$$Z = \begin{cases} \frac{(S - 1)}{\sigma_s} & s > 0 \\ 0 & s = 0 \\ \frac{(S + 1)}{\sigma_s} & s < 0 \end{cases} \tag{12}$$

The z -test statistic is the standard normal distribution. if there are equal observations, σ_s is calculated as follows;

$$\sigma_s = \sqrt{[n(n - 1)(2n + 5) - \sum_i(t_i - 1)(2t_i + 5)] / 18} \tag{13}$$

t_i is the number of observations that are equal.

Innovative trend analysis

The innovative trend analysis developed by Şen (2012) has been widely used in trend analysis of hydro-meteorological observations in recent years. In this approach, the data set is divided in the middle to form two equal data sets and these series are ordered from smallest to largest on the x-axis and y-axis. These data sets are represented by a 1:1 line with an angle of 45 degrees in the Cartesian coordinate system. Figure 4 represents the sample graphical results for the ITA approach. According to

ITA, the area above the 1:1 line is the increasing trend area, and the area below it is the decreasing trend area. The 1:1 line is the no-trend area.

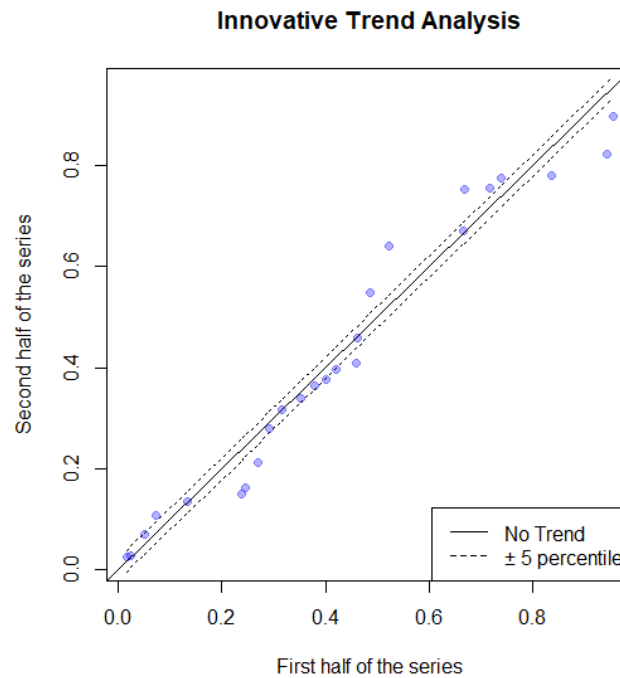


Figure 4. The innovative trend analysis method (ITA)

The statistical significance test introduced by Şen (2017) divides the time series into two equal parts and finds their arithmetic average. The trend slope is found by the following formulas.

$$E(s) = 2 \frac{[E(\bar{y}_2) - E(\bar{y}_1)]}{n} \quad (14)$$

$$\sigma_s^2 = 8 \frac{[E(\bar{y}_2^2) - E(\bar{y}_1 \bar{y}_2)]}{n^2} \quad (15)$$

$$\rho_{\bar{y}_1 \bar{y}_2} = \frac{E(\bar{y}_1 \bar{y}_2) - E(\bar{y}_2) - E(\bar{y}_1)}{\sigma_{y_1} \sigma_{y_2}} \quad (16)$$

$$\sigma_s^2 = \frac{8}{n^2} \frac{\sigma^2}{n} (1 - \rho_{\bar{y}_1 \bar{y}_2}) \quad (17)$$

$$\sigma_s = \frac{2\sqrt{2}}{n\sqrt{n}} \sigma \sqrt{(1 - \rho_{\bar{y}_1 \bar{y}_2})} \quad (18)$$

Where n is data set length, $E(s)$ is the first-order moment of slope value, σ_s^2 trend slope variance and the SD of the trend slope.

$$CL_{(1-\alpha)} = 0 \mp s_{cri} \sigma_s \quad (19)$$

The formula 19 represents the trend slope confidence interval calculation. s_{cri} is the value of z obtained from the standard normal distribution with a specific level of confidence. No statistically significant trend occurs when the trend slope is between the confidence level, increasing trend when it is higher than the upper confidence level and decreasing trend when it is less than the lower confidence level. The confidence interval of these tests used in the study was according to 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Homogeneity Analysis

Quality control of hydro-meteorological data sets before statistical analyses provides information about the data set. Homogeneity analysis is one of these control tools. Since SPI drought index was

used in this study, the homogeneity of rainfall data sets was analysed by four homogeneity analysis as Pettitt, SNHT, Buishand, Von-Neuman tests. Homogeneity analysis results are given in Table 2. Ho hypothesis indicates the homogeneity of the series while Ha indicates the rejection of the hypothesis. While homogeneity was found in 3 out of 4 tests in Siirt, Diyarbakır, and Batman stations, rejection of the Ho hypothesis was found in all tests in Mardin station. The deterioration of homogeneity in data sets may give information about the presence of a trend. As a matter of fact, at the end of the study, the increase in drought at Mardin station means a decrease in precipitation, which may explain the deterioration of homogeneity here.

Table 2. The results of the homogeneity analysis for the rainfall data set (Ho= Homogenous, Ha= Non-homogenous)

| Station Number | Meteorological Variables | SHNT | Pettitt | Buishand Range | Von Neumann |
|----------------|---------------------------------|------|---------|----------------|-------------|
| Siirt | Annual total precipitation (mm) | Ho | Ho | Ho | Ha |
| Mardin | Annual total precipitation (mm) | Ha | Ha | Ha | Ha |
| Diyarbakır | Annual total precipitation (mm) | Ho | Ho | Ho | Ha |
| Batman | Annual total precipitation (mm) | Ho | Ho </tr | | |

Drought characteristics

In this study, the standardized precipitation index was first obtained from Diyarbakır, Batman, Siirt, and Mardin stations. Then, the drought severity series were obtained for these stations.



Figure 5. Drought characteristic of 17210-Siirt

Since negative values in the SPI drought index represent drought periods, the drought severity series consists of the cumulative sum of these negative values. drought duration shows the sum of the months during which the index values fall below zero and then rise above zero again. As an example, Figure 5 shows the graph of drought duration and severity series of 17210-Siirt station for 1-, 3-, 6-, 9-, and 12-months.

Considering the drought duration and severity of the stations, the drought severity increases as the drought period increases. It is also clear from the graph that drought severities are at negative values. therefore. when it is decided that there is a decreasing trend in trend analysis, this means that drought is increasing. On the contrary, drought is decreasing if drought intensity shows an increasing trend.

Mann-Kendall test

For the Mann Kendal test to have a significant trend in the 95% confidence interval, the z value must be more than 1.96 or less than -1.96. Table 3 shows the test results of drought severity of four stations according to five different time scales (1-, 3-, 6-, 9-, and 12-month). Siirt and Mardin stations showed decreasing tendency in all periods, Diyarbakır station showed decreasing trend in 6- and 12-month periods, and Batman station showed a decreasing tendency in 1- and 9-month periods. It is seen that there is a significant trend only in Mardin station according to the 1-month time scale.

Table 3. The results of the Mann-Kendall for 1-, 3-, 6-, 9-, and 12-month drought severity

| Station | SPI1 | SPI3 | SPI6 | SPI9 | SPI12 |
|------------|---------------|--------|--------|--------|--------|
| Siirt | -1.123 | -0.423 | -0.332 | -0.398 | -0.944 |
| Mardin | -2.417 | -0.285 | -0.471 | -0.379 | -0.108 |
| Diyarbakır | 0.172 | 0.261 | -0.209 | 0.415 | -0.605 |
| Batman | -1.277 | 0.377 | 1.063 | -0.280 | 0.540 |

In fact, a decreasing trend in drought severity data shows an increase in drought. In contrast, Diyarbakır and Batman stations show an increasing trend in drought according to 6- and 12-month and 1- and 9-month time periods, respectively. A statistically significant increase in drought was observed only in the Mardin station at the 1-month time scale.

Innovative trend results

In the study, graphical and statistical analyses were made for innovative trend analysis. The graphs (Figure 6- 9) of the innovative trend analysis for four stations in the study area are shown below.

Statistical significance tests of innovative trend analysis of drought severity series obtained from SPI five different time scale index values of the stations were performed, and trend slopes and upper and lower values at 95% confidence level were determined. When the trend slope is between the confidence levels, it is concluded that there is no trend, when it is lower than lower confidence level, there is a decreasing trend, when it is higher than upper confidence level, there is an increasing trend.

Table 4 indicates the Innovative trend significance test results of drought severity series in 1-, 3-, 6-, 9-, and 12-month time periods of four stations according to 0.05 significant level. When the table is analysed, it is seen that Mardin station has a statistically significant decreasing trend in all periods. In Siirt Diyarbakır and Batman, the decreasing trend is observed in 1-month, 12-month, 1- and 12-month periods, respectively. On the other hand, the increasing trend is detected in Siirt (9-month), Diyarbakır (3-, 6- and 9-month), and Batman (9-month) stations.

Trend Analysis of Drought Severity in Southeast of Türkiye

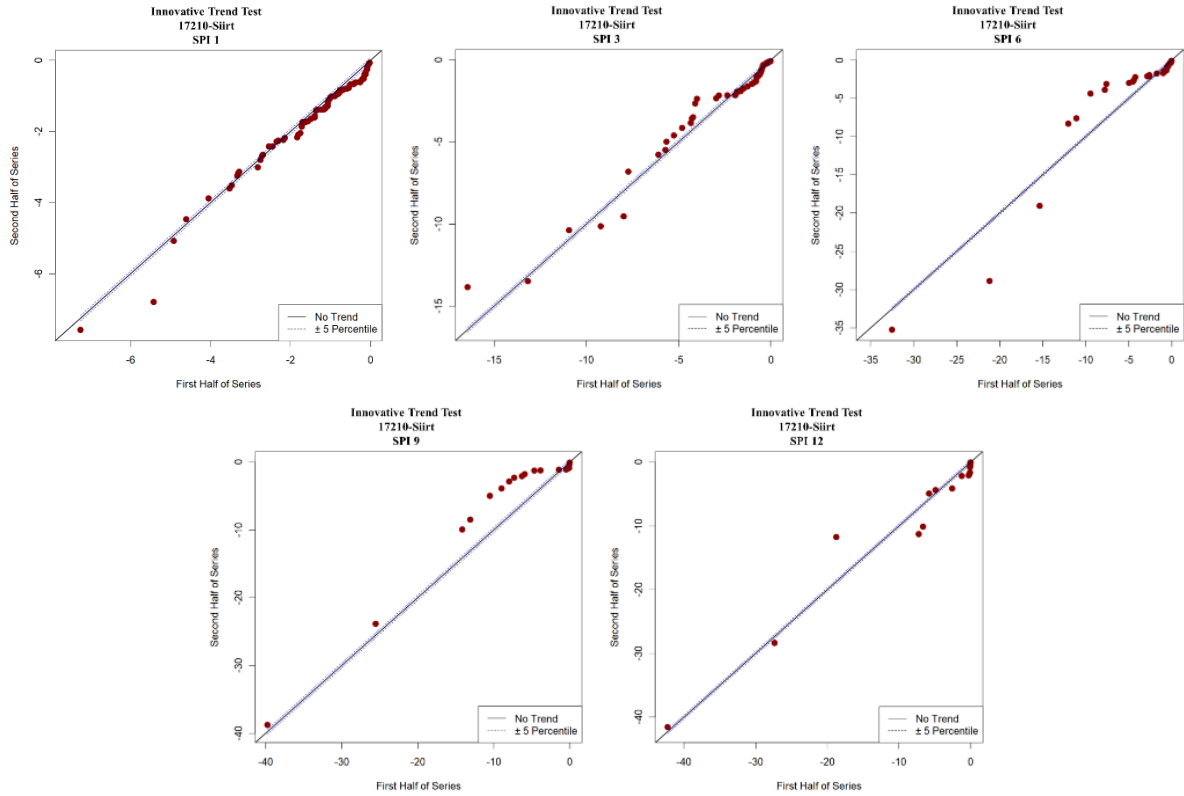


Figure 6. ITA of drought severity of Siirt (1-, 3-, 6-, 9- and 12-month)

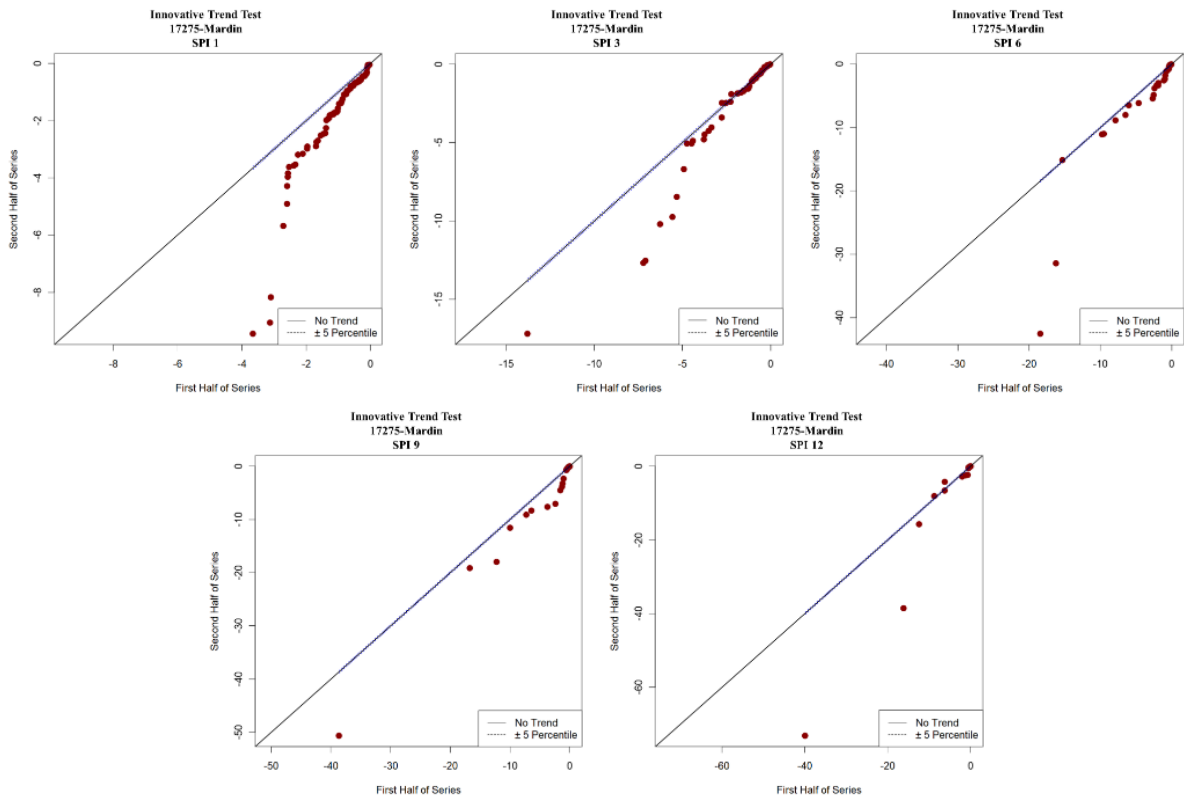


Figure 7. ITA of drought severity of Mardin (1-, 3-, 6-, 9- and 12-month)

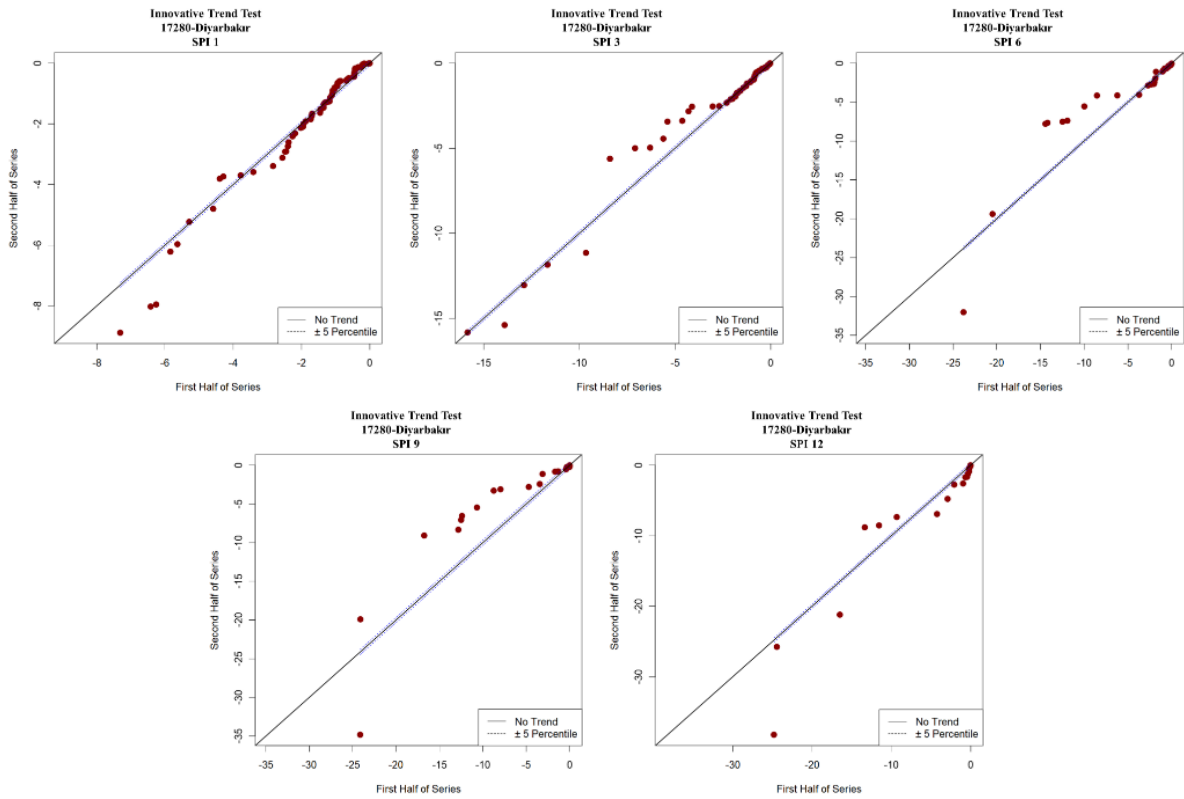


Figure 8. ITA of drought severity of Diyarbakır (1-, 3-, 6-, 9- and 12-month)

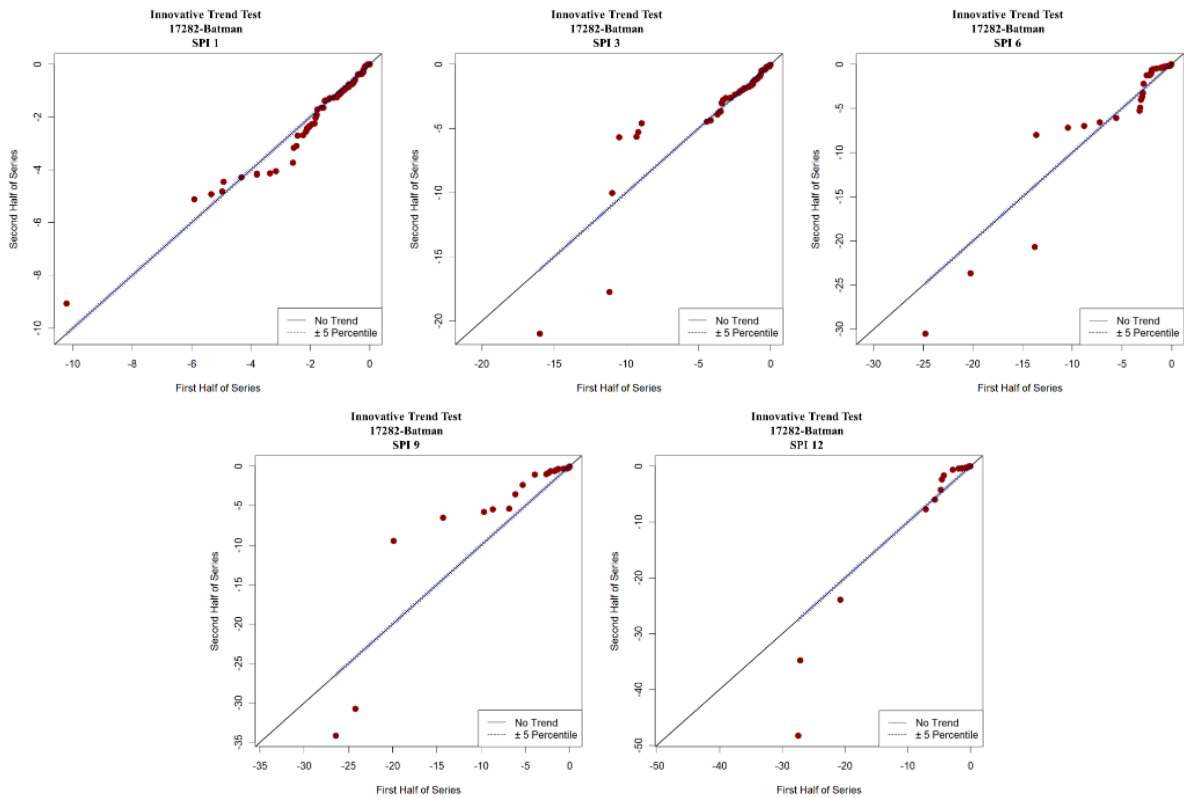


Figure 9. ITA of drought severity of Batman (1-, 3-, 6-, 9- and 12-month)

This explains that drought increased in all time periods in Mardin station, while drought increased in some time periods in Siirt (1-month), Diyarbakır (12-month) and Batman (1- and 12-month).

Table 4. Statistical significance test result of ITA

| Station | Time Scale | Slope | Intercept | Slope of SD | Correl. | Lower CL | Upper CL | Decision |
|------------|------------|---------|-----------|-------------|---------|----------|----------|----------|
| Siirt | SPI 1 DS | -0.0019 | 1.0716 | 0.0002 | 0.9908 | -0.0003 | 0.0003 | Downward |
| | SPI 3 DS | 0.0022 | -0.3645 | 0.0012 | 0.9845 | -0.0024 | 0.0024 | No Trend |
| | SPI 6 DS | 0.0094 | -0.6751 | 0.0082 | 0.9573 | -0.0161 | 0.0161 | No Trend |
| | SPI 9 DS | 0.0954 | -2.8582 | 0.0167 | 0.9692 | -0.0327 | 0.0327 | Upward |
| | SPI 12 DS | -0.0243 | 0.7646 | 0.0174 | 0.9810 | -0.0341 | 0.0341 | No Trend |
| Mardin | SPI 1 DS | -0.0090 | 7.0637 | 0.0005 | 0.9388 | -0.0010 | 0.0010 | Downward |
| | SPI 3 DS | -0.0102 | 2.7020 | 0.0012 | 0.9747 | -0.0023 | 0.0023 | Downward |
| | SPI 6 DS | -0.0533 | 5.3056 | 0.0096 | 0.9315 | -0.0189 | 0.0189 | Downward |
| | SPI 9 DS | -0.0818 | 4.0942 | 0.0081 | 0.9918 | -0.0160 | 0.0160 | Downward |
| | SPI 12 DS | -0.2270 | 6.2885 | 0.0338 | 0.9782 | -0.0662 | 0.0662 | Downward |
| Diyarbakır | SPI 1 DS | -0.0004 | 0.1968 | 0.0002 | 0.9892 | -0.0005 | 0.0005 | No Trend |
| | SPI 3 DS | 0.0039 | -0.7940 | 0.0012 | 0.9822 | -0.0024 | 0.0024 | Upward |
| | SPI 6 DS | 0.0234 | -1.6770 | 0.0118 | 0.9126 | -0.0232 | 0.0232 | Upward |
| | SPI 9 DS | 0.0805 | -2.6490 | 0.0255 | 0.8886 | -0.0499 | 0.0499 | Upward |
| | SPI 12 DS | -0.0577 | 1.9047 | 0.0240 | 0.9493 | -0.0470 | 0.0470 | Downward |
| Batman | SPI 1 DS | -0.0012 | 0.7138 | 0.0003 | 0.9837 | -0.0005 | 0.0005 | Downward |
| | SPI 3 DS | 0.0016 | -0.3174 | 0.0029 | 0.9057 | -0.0058 | 0.0058 | No Trend |
| | SPI 6 DS | 0.0016 | -0.1619 | 0.0053 | 0.9610 | -0.0103 | 0.0103 | No Trend |
| | SPI 9 DS | 0.0324 | -2.1069 | 0.0130 | 0.9187 | -0.0254 | 0.0254 | Upward |
| | SPI 12 DS | -0.0664 | 1.7669 | 0.0247 | 0.9757 | -0.0484 | 0.0484 | Downward |

Table 5 shows the trends detected in the MK and ITA tests. When compared, no contrasting results were obtained at any station between the two methods. However, it is seen in the table that the trends not detected in MK are detected in ITA. The 1-month drought intensity of the Mardin station, which was detected as a downward trend in MK, was also a downward trend in ITA.

Table 5. The comparison of tests used in trend analysis (→=No Trend, ↓= Downward, and ↑= Upward)

| Stations | Trend Tests | SPI 1 DS | SPI 3 DS | SPI 6 DS | SPI 9 DS | SPI 12 DS |
|------------|-------------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| Siirt | MK | → | → | → | → | → |
| | ITA | ↓ | → | → | ↑ | → |
| Mardin | MK | ↓ | → | → | → | → |
| | ITA | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| Diyarbakır | MK | → | → | → | → | → |
| | ITA | → | ↑ | ↑ | ↑ | ↓ |
| Batman | MK | → | → | → | → | → |
| | ITA | ↓ | → | → | ↑ | ↓ |

When the studies conducted by Sezen (2020), Muratoglu (2012) and Gumus (2022) in the Tigris basin, where the stations used in this study are located, are examined, it is seen that precipitation and flow show a decreasing trend throughout the basin. In contrast to these, temperature shows an increasing trend (Hadi and Tombul, 2018). It is usual that drought, which occurs when the meteorological and hydrological water availability falls below normal, is negatively affected by the decrease in precipitation and flow in the region and the increase in temperatures. In all 4 stations, as a result of the negative change in drought severity, it can be shown among the reasons for the increase in short- and long-term drought events.

CONCLUSION

Drought analyses were calculated for 1-, 3-, 6-, 9-, and 12-month periods using the SPI method. The trends of drought severity were calculated by applying MK and ITA to the drought severity series, which is one of the drought parameters. According to the results obtained from drought analysis in the study area, it was determined that high severity droughts were observed in high time periods and the

duration of these droughts was high in proportion to their severity. In the results obtained, according to the MK test, no significant trend in drought severity was detected in all time periods of all stations except for Mardin (1-month). According to ITA, which captures more trends than the MK test, drought severity shows an increase in Siirt and Batman in the 1-month period, Diyarbakır and Batman stations in the 12-month period, where there is an increase in drought severity in all periods of Mardin station.

As a result, drought increases according to the SPI drought severity index in the Southern-east Region of Turkey. Identification of drought characteristics and analyses of their temporal variations contribute to the water use action plans of administrations and legislators in the region. Because of that, in the future studies, it is considered to make a more detailed analysis of drought using different drought indices and trend analysis methods. Trend analysis of drought indices will give us more explicit information in determining drought.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Achite, M., Simsek, O., Adarsh, S., Hartani, T., & Caloiero, T. (2023). Assessment and monitoring of meteorological and hydrological drought in semiarid regions: The Wadi Ouahrane basin case study (Algeria). *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 130, 103386.
- Aksu, H., Cetin, M., Aksoy, H., Yaldiz, S. G., Yildirim, I., & Keklik, G. (2022). Spatial and temporal characterization of standard duration-maximum precipitation over Black Sea Region in Turkey. *Natural Hazards*, 1-27.
- Alexandersson, H. (1986). A homogeneity test applied to precipitation data. *Journal of Climatology*, 6(6), 661-675.
- Alsenjar, O. , Aksu, H. & Çetin, M. (2022). The Use of Some Specific Drought Indices to Evaluate Meteorological Drought Events in the Black Sea Region of Turkey . *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 37 (2) , 261-272 .
- Banda, V. D., Dzwairo, R. B., Singh, S. K., & Kanyerere, T. (2021). Trend analysis of selected hydro-meteorological variables for the Rietspruit sub-basin, South Africa. *Journal of Water and Climate Change*, 12(7), 3099-3123.
- Buishand, T. A. (1982). Some methods for testing the homogeneity of rainfall records. *Journal of hydrology*, 58(1-2), 11-27.
- Caloiero, T. (2018). SPI trend analysis of New Zealand applying the ITA technique. *Geosciences*, 8(3), 101.
- Citakoglu, H., & Minarecioglu, N. (2021). Trend analysis and change point determination for hydro-meteorological and groundwater data of Kizilirmak basin. *Theoretical and Applied Climatology*, 145(3-4), 1275-1292.
- Coşkun, S. (2020). Van gölü kapalı havzasında yağışların trend analizi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 8(2), 521-532.
- Deger, İ. H., Yüce, M. İ., & Musa, E. (2023). An Investigation of Hydrological Drought Characteristics in Kızılırmak Basin, Türkiye: Impacts and Trends. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(1), 126-139.
- Dikici, M. (2020). Drought analysis with different indices for the Asi Basin (Turkey). *Scientific Reports*, 10(1), 20739.

- Ebru, E., & Necati, A. (2012). Homogeneity and trend analysis of hydrometeorological data of the Eastern Black Sea Region, Turkey. *Journal of Water Resource and Protection*, 2012.
- Elzeiny, R., Khadr, M., Zahran, S., & Rashwan, E. (2019). Homogeneity Analysis of Rainfall Series in the Upper Blue Nile River Basin, Ethiopia. *Journal of Engineering Research*, 3, 46-53.
- Ercan, B., & Yüce, M. I. (2017). Trend analysis of hydro-meteorological variables of Kızılırmak Basin. *Neşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6, 333-340.
- Eslamian, S., Ostad-Ali-Askari, K., Singh, V. P., Dalezios, N. R., Ghane, M., Yihdego, Y., & Matouq, M. (2017). A review of drought indices. *Int. J. Constr. Res. Civ. Eng*, 3, 48-66.
- Gumus, V., Avsaroglu, Y., & Simsek, O. (2022). Streamflow trends in the Tigris river basin using Mann-Kendall and innovative trend analysis methods. *Journal of Earth System Science*, 131(1), 34.
- Gümüş, V., Avşaroğlu, Y., Şimşek, O., & Dinsever, L. D. (2023). Evaluation of meteorological time series trends in Southeastern Anatolia, Turkey. *Geofizika*, 40(1), 1-25.
- Gumus, V., Dinsever, L. D., & Avsaroglu, Y. (2023). Analysis of drought characteristics and trends during 1965–2020 in the Tigris River basin, Turkey. *Theoretical and Applied Climatology*, 1-17.
- Hadi, S. J., & Tombul, M. (2018). Long-term spatiotemporal trend analysis of precipitation and temperature over Turkey. *Meteorological Applications*, 25(3), 445-455.
- Hakan, A., Savaş, K., & Osman, Ş. (2010). Trend analysis of hydrometeorological parameters in climate regions of Turkey. Paper presented at the Conference pre release, BALWOIS.
- Jain, S. K., & Kumar, V. (2012). Trend analysis of rainfall and temperature data for India. *Current Science*, 37-49.
- Katipoğlu, O. M. (2022). Dicle Havzasındaki Bazı İstasyonlara ait Potansiyel Evapotranspirasyon Verilerinin Trend Analizi. *Doğal Afetler ve Çevre Dergisi*, 8(2), 292-304.
- Kocaoğlu, E., & Çağlıyan, A. (2022). Çanakkale Yağış Gözlem İstasyonlarının Homojenlik Durumu Ve Yıllık Yağışların Trend Analizi. *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 32(2), 391-408.
- McKee, T. B., Doesken, N. J., & Kleist, J. (1993). The relationship of drought frequency and duration to time scales. Paper presented at the Proceedings of the 8th Conference on Applied Climatology.
- Mishra, A. K., & Singh, V. P. (2010). A review of drought concepts. *Journal of Hydrology*, 391(1-2), 202-216.
- Muratoglu, A., & Yuce, M. I. (2012, October). Trend analysis of Tigris River basin stream flow data. In Proceedings of 10th International Congress on Advances in Civil Engineering (pp. 17-19).
- Palmer, W. C. (1965). Meteorological drought (Vol. 30): US Department of Commerce, Weather Bureau.
- Partal, T., & Kahya, E. (2006). Trend analysis in Turkish precipitation data. *Hydrological Processes: An International Journal*, 20(9), 2011-2026.
- Pastagia, J., & Mehta, D. (2022). Application of innovative trend analysis on rainfall time series over Rajsamand district of Rajasthan state. *Water Supply*, 22(9), 7189-7196.
- Pettitt, A. N. (1979). A non-parametric approach to the change-point problem. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)*, 28(2), 126-135.
- Phuong, D. N. D., Tram, V. N. Q., Nhat, T. T., Ly, T. D., & Loi, N. K. (2020). Hydro-meteorological trend analysis using the Mann-Kendall and innovative-Şen methodologies: a case study. *International Journal of Global Warming*, 20(2), 145-164.
- Redmond, K. (2002). The depiction of drought Bull. *Am Meteorol Soc*, 83, 1143-1147.
- Salami, A. W., Mohammed, A. A., Abdulmalik, Z. H., & Olanlokun, O. K. (2014). Trend analysis of hydro-meteorological variables using the Mann-Kendall trend test: Application to the Niger River and the Benue sub-basins in Nigeria. *International Journal of Technology*, 5(2), 100-110.
- Şen, Z. (2012). Innovative trend analysis methodology. *Journal of Hydrologic Engineering*, 17(9), 1042-1046.

- Şen, Z. (2014). Trend identification simulation and application. *Journal of Hydrologic Engineering*, 19(3), 635-642.
- Şen, Z. (2017). Innovative trend significance test and applications. *Theoretical and Applied Climatology*, 127, 939-947.
- Şen, Z. (2019). Climate change expectations in the upper Tigris River basin, Turkey. *Theoretical and Applied Climatology*, 137, 1569-1585.
- Sezen, C., & Partal, T. (2020). Wavelet combined innovative trend analysis for precipitation data in the Euphrates-Tigris basin, Turkey. *Hydrological Sciences Journal*, 65(11), 1909-1927.
- Thom, H.C.S., (1958). "A Note on Gamma Distribution", *Monthly Weather Review*, 86(4), 117-122,
- Tokgöz, S., & Partal, T. (2020). Karadeniz Bölgesinde yıllık yağış ve sıcaklık verilerinin yenilikçi şen ve mann-kendall yöntemleri ile trend analizi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(2), 1107-1118.
- Umar, S., Lone, M., Goel, N., & Zakwan, M. (2022). Trend analysis of hydro-meteorological parameters in the Jhelum River basin, North Western Himalayas. *Theoretical and Applied Climatology*, 148(3-4), 1417-1428.
- Variance. *Annals of Mathematical Statistics*, 12(4), 367-395.
- Vincent, L. A., van Wijngaarden, W. A., & Hopkinson, R. (2007). Surface temperature and humidity trends in Canada for 1953-2005. *Journal of climate*, 20(20), 5100-5113.
- Von Neumann, J. (1941). Distribution of The Ratio of the Mean Square Successive Difference to the Wilhite, D. A. (2000a). Drought as a natural hazard: concepts and definitions.
- Wilhite, D. A. (2000b). Drought preparedness in the United States: recent progress. Drought and drought mitigation in Europe, 119-131.
- Wilhite, D. A., & Glantz, M. H. (1985). Understanding: the drought phenomenon: the role of definitions. *Water international*, 10(3), 111-120.
- Xu, K., Yang, D., Xu, X., & Lei, H. (2015). Copula based drought frequency analysis considering the spatio-temporal variability in Southwest China. *Journal of Hydrology*, 527, 630-640.
- Yildirim, G., & Rahman, A. (2022). Homogeneity and trend analysis of rainfall and droughts over Southeast Australia. *Natural Hazards*, 112(2), 1657-1683.
- Zeybek, M., AHISKA, S., & Yıldız, S. (2016). Dicle Nehri (Türkiye) Oligochaeta (Annelida) faunasının taksonomik açıdan belirlenmesine yönelik bir ön araştırma. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 33(1), 47-53.

Atf İçin: Dogan, H. (2024). Schottky Bariyer Diyotlarında Termal Tavlama İşleminin ANFIS ile Modellenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 696-705.

To Cite: Dogan, H. (2024). Modeling the Thermal Annealing Process of Schottky Barrier Diodes with ANFIS. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 696-705.

Schottky Bariyer Diyotlarında Termal Tavlama İşleminin ANFIS ile Modellenmesi

Hülya DOĞAN

Öne Çıkanlar:

- Ağ tabanlı bulanık çıkarım sistemi
- Metal-yarıiletken Schottky diyotlar
- Tavlama sıcaklığının Anfis ile modellenmesi

ÖZET:

Bu çalışmada, Schottky bariyer diyotları (SBD'ler) için termal tavlama işleminin modellenmesi ve tahmin edilmesi için uyarlanabilir ağ tabanlı bulanık çıkarım sisteminin (ANFIS) kullanılmasına yönelik bir yöntem önerilmiştir. Laboratuvar ortamında Ni/n-GaAs/In Schottky bariyer diyotlar üretilmiş ve Schottky kontaklar üzerinden diyotun gerilim ve akım parametreleri 200⁰ C'den 600⁰ C'e kadar 100⁰ C sıcaklık adımları kullanılarak ölçüldü. SBD kontaktlarına ait gerilim, akım ve tavlama sıcaklığı parametreleri deneysel olarak elde edildi. Bu parametreler termal tavlama işleminin ana faktörleri olarak seçilmiştir. ANFIS sisteminin eğitimi için bu üç parametreyi içeren deneysel veriler kullanılmıştır. Deneysel verilerin eğitimi için genelleştirilmiş bell üyelik fonksiyonu içeren hibrit bir ANFIS modeli kullanıldı. Sonuçlara göre, Schottky bariyer diyotların tavlama sürecinin modellenmesinde önerdiğimiz ANFIS modeli verimli ve doğru sonuçlar vermiştir.

Anahtar Kelimeler:

- Anfis
- Schottky
- Tavlama

Modeling the Thermal Annealing Process of Schottky Barrier Diodes with ANFIS

Highlights:

- Adaptive neuro fuzzy inference system
- Metal-semiconductor Schottky diodes
- Modeling the annealing temperature with Anfis

ABSTRACT:

In this work, a method for using adaptive neuro fuzzy inference system (ANFIS) to model and predict the thermal annealing process for Schottky barrier diodes (SBDs) is proposed. Ni/n-GaAs/In Schottky barrier diodes were produced in the laboratory environment, and the voltage and current parameters of the diode were measured over Schottky contacts from to with steps of Voltage, current and annealing temperature parameters of SBD contacts were obtained experimentally. These parameters were chosen as the main factors of the thermal annealing process. Experimental data containing these three parameters were used to train the ANFIS system. A hybrid ANFIS model with a generalized bell membership function was used to train the experimental data. The result showed that the ANFIS model was an efficient and accurate model for the Schottky barrier diode.

Keywords:

- Anfis
- Schottky
- Annealing

Hülya DOĞAN ([Orcid ID: 0000-0002-5501-2194](https://orcid.org/0000-0002-5501-2194)), Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü, Sivas, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hülya DOĞAN, e-mail: hdogan@cumhuriyet.edu.tr

GİRİŞ

Schottky diyot, metal-yarıiletken doğrultucu kontak diyotudur (Sze and Mattis, 1970). Metal-yarıiletken Schottky diyotlar teknolojik açıdan önemli bir yere sahiptir. Çok hızlı anahtarlama kabiliyetine ve yüksek frekanslarda çalışma özelliğine sahip olan Schottky diyotlar, mikrodalga diyotlar, alan etkili transistörler (FET'ler), güneş pilleri, foto dedektörler dahil olmak üzere çok sayıda yarıiletken elektronik cihazın temelini oluşturur (Rhoderick, 1982; Tung, 2001). SBD'lerin engel yüksekliğinin termal tavlamaya karşı davranışı hem bilimsel hem de teknolojik açıdan ilgi görmektedir (Robinson, 1985; Van Meirhaeghe, 1994). Termal tavlama dolayısı ile metal yarıiletken arayüzeyinde kinetik işlemler meydana gelebilir. Tavlama sırasında metal yarıiletken arayüzeyinde; arayüzey difüzyonu, kimyasal reaksiyonlar, kirlilikler, yeni bileşikler ve yeni kusurlar ortaya çıkabilir (Yıldırım et. al, 2018; Dogan et. al, 2008; Cheung and Cheung, 1986). SBD'ların karakteristik parametrelerinin performansları büyük ölçüde Schottky metali ile yarı iletken yüzey arasındaki arayüzeyin kalitesi tarafından belirlenir (Dogan et. al, 2008). Metal yarı iletken diyotların kararlılığını ve performansını artırmak için en çok tercih edilen yöntem, yarı iletken alt tabakanın yüzeylerinde gerekli metal kontaktlar oluşturulduktan sonra metal-yarı iletken yapının termal tavlama işlemidir.

Termal tavlama, Schottky bariyer diyotlarının termal stabilitesini araştırmak için önemli bir işlemdir. Bu işlem SBD'ler için çeşitli tavlama sıcaklık değerleri için yapılabilir. Ancak termal tavlamanın birçok farklı sıcaklık değeri için gerçekleştirilmesi zordur. Çünkü ölçümler yüksek maliyetli teknoloji gerektirir ve çok zaman alır. Ayrıca bu tür deneylerde cihazların düzgün çalışmaması veya kişilerden kaynaklanan hatalardan dolayı deneysel veriler kaybolabilmektedir. Kaybolan verileri kurtarmak oldukça karmaşık bir süreçtir.

Uyarlanabilir ağ tabanlı bulanık çıkarım sistemi (ANFIS), akım ve gerilim ölçüm değerleri kullanılarak SBD'lerin modellenmesinde literatürde sıkça kullanılmaktadır (Jang, 1993). Bu modeller yardımıyla SBD için farklı koşullarda ve geniş toleranslarda ölçüm yapıldıktan sonra, aynı malzemenin farklı ölçüm yapılmayan koşullarda elektriksel özelliklerinin (gerilim-akım parametreleri) belirlenmesi gerçekleştirilebilmektedir. Bu durum maliyet ve işçilikten tasarruf sağlamaktadır. Böylece ANFIS modeli sayesinde Schottky bariyer diyotunun veri kaybı veya eksikliği durumunda gerilim-akım karakteristik değerleri elde edilebilmektedir.

Bahsedilen modelleme avantajını değerlendirmek için, nispeten düşük tavlama sıcaklıklarında bile GaAs üzerinde oldukça reaktif olan soy metallerine yakın metal grubunu temsil eden Nikel elementini bir SBD kontak metali oluşturmak için kullanıldı. [Brillson, 1982; Zu et. al, 2004; Sands, 1989;Lahav et al. 1986; Sands et al 1988]. N₂ atmosferinde 1 dakikalık adımlarla tavlama yapılan Ni/n-GaAs/In Schottky diyotların termal stabilitesi incelendi. Her tavlama sıcaklığı adımı için Schottky diyotunun akım ve gerilim parametreleri ölçüldü. Daha sonra ANFIS modeli oluşturmak için tavlama sıcaklığı, gerilim ve akım parametreleri kullanıldı. Özellikle bu modelde gerilim ve sıcaklık giriş iken akım çıkış olarak belirlendi.

Bu çalışmada, Schottky bariyer diyotları için termal tavlama işleminin modellenmesinde ANFIS kullanıldı. 200⁰ C'den 600⁰ C'e kadar 100⁰ C sıcaklık adımları kullanılarak SBD'lerin tavlama gerçekleştirildi ve Schottky kontaktlar üzerinden diyotun gerilim ve akım parametreleri ölçüldü. Akım, gerilim ve sıcaklık değerleri ANFIS modelinin giriş ve çıkışlarını besleyecek şekilde tasarım gerçekleştirildi. ANFIS modeli test ve eğitim aşamalarından geçirildi. En son kısımda ise katkılı ve tavlama işlemi gerçekleştirildi.

MATERYAL VE METOT

Uyarlanabilir Ağ Tabanlı Bulanık Çıkarım Sistemi (ANFIS)

Uyarlanabilir ağ tabanlı bulanık çıkarım sistemi (ANFIS), doğrusal olmayan veya bulanık girdi ve çıktı verilerinin modellenmesi ve girdiye göre çıktının tahmin edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, belirli bir eğitim veri setini taklit etmek amacıyla bulanık çıkarım sistemi üyelik fonksiyonu parametrelerini eğitmek için hibrit iniş yöntemini kullandı. ANFIS sistemi, sinir ağlarını ve bulanık çıkarım sistemini içeren bir sistem olarak tasarlanmıştır.

ANFIS ilk olarak 1993 yılında Jang tarafından tanıtıldı (Jang, 1993). ANFIS, Takagi-Sugeno çıkarım modelini temel alan bir çıkarım modeli içerir (Takagi and Sugeno, 1983; Takagi and Sugeno, 1985). Sugeno tipi bulanık çıkarım sistemlerinin sonuç parametrelerini tanımlamak için hibrit bir öğrenme algoritması kullanır.

Bu çalışmada, ele alınan bulanık çıkarım sisteminin iki girişi x ve y ve bir çıkışı z olduğunu varsayıyoruz. x ve y sıcaklık ve gerilim iken z ise akım olarak sisteme tanıtıldı. Birinci dereceden bir Sugeno bulanık modeli için, iki bulanık eğer-o halde kuralından oluşan ortak bir kural seti aşağıdaki gibidir:

Kural 1: Eğer (x , A_1 ise) ve (y , B_1 ise) o zaman $f_1 = p_1x + q_1y + r_1$

Kural 2: Eğer (x A_2 ise) ve (y B_2 ise) o zaman $f_2 = p_2x + q_2y + r_2$

Burada p_1, p_2, q_1, q_2, r_1 ve r_2 doğrusal parametrelerdir ve A_1, A_2, B_1 ve B_2 doğrusal olmayan parametrelerdir.

ANFIS yapısı Şekil 1'de gösterilmektedir ve burada aynı katmandaki düğümler benzer işlevlere sahiptir. Sistemin tamamı beş katmandan oluşmaktadır. Bu katmanlar bulanıklaştırma katmanı, ürün katmanı, normalleştirilmiş katman, durulaştırma katmanı ve çıktı katmanıdır. Bunlar aşağıdaki gibi açıklanmıştır.

Katman 1 bulanıklaştırma katmanıdır. Bu katmanda x ve y sırasıyla A_1, B_1 ve A_2, B_2 düğümlerinin girdisidir. A_1, A_2, B_1 ve B_2 , bulanık teoride üyelik fonksiyonlarını bölmek için kullanılan dilsel etiketlerdir. Bu katmanın çıkış ve giriş fonksiyonları arasındaki üyelik ilişkisi aşağıdaki şekilde ifade edilebilir.

$$O_{1,i} = \mu_{A_i}(x), i = 1, 2 \quad (1)$$

$$O_{1,j} = \mu_{B_j}(y), i = 1, 2$$

Burada $O_{1,i}$ ve $O_{1,j}$ çıkış fonksiyonlarını, μ_{A_i} ve μ_{B_j} ise üyelik fonksiyonlarını göstermektedir.

Katman 2, Π etiketli iki düğümden oluşan ürün katmanıdır. W_1 ve W_2 çıktıları bir sonraki katmanın ağırlık fonksiyonlarıdır. Bu katmanın çıktısı girdinin çarpımıdır. Aşağıdaki gibi tanımlanmıştır.

$$O_{2,i} = w_i = \mu_{A_i}(x)\mu_{B_i}(y), i = 1, 2 \quad (2)$$

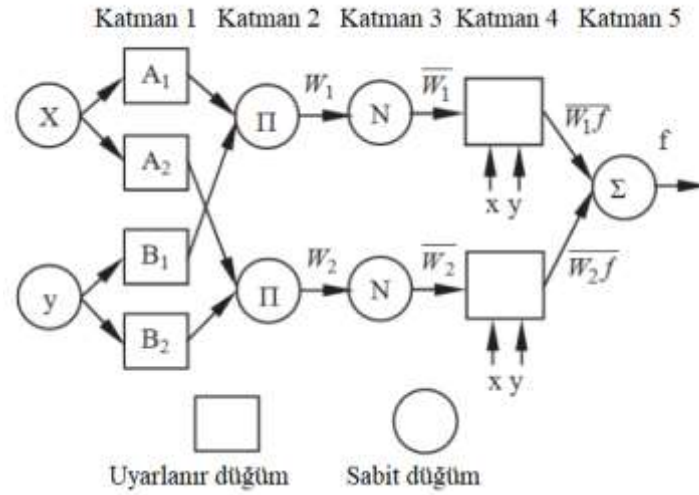
Burada $O_{2,i}$, katman 2'nin çıktısıdır.

Katman 3 düğümleri N olarak etiketlenen normalleştirilmiş katmandır. Bu katmanın işlevi aşağıdaki süreçte ağırlık fonksiyonunu normalleştirmektir.

$$O_{3,i} = \bar{w}_i = \frac{w_i}{w_1 + w_2}, i = 1, 2 \quad (3)$$

Burada $O_{3,i}$, Katman 3'ün çıktısıdır.

4. katman durulaştırma katmanıdır. Bu katmandaki düğümler uyarlanabilir düğümlerdir. Bu katmanın girdileri ve çıktıları arasındaki ilişki şu şekilde tanımlanabilir.



Şekil 1. ANFIS Modeli

$$O_{4,i} = \bar{w}_i(p_i x + q_i y + r_i), i = 1, 2 \quad (4)$$

Burada $O_{4,i}$, Katman 4'ün çıktısıdır. P_i , q_i ve r_i ise düğümün doğrusal parametreleridir.

Katman 5, düğümü Σ olarak etiketlenen çıktı katmanıdır. Bu katmanın çıktısı, temizleme oranlarının sonuçlarını temsil eden girdilerin tüm bileşenlerinden oluşur. Çıktı aşağıdaki gibi ifade edilebilir.

$$O_{5,i} = \sum_i \bar{w}_i f_i = \frac{\sum_i w_i f_i}{\sum_i w_i}, i = 1, 2 \quad (5)$$

Burada $O_{5,i}$, Katman 5'in çıktısıdır.

Deneysel prosedür

ANFIS sistemini modellemek için Ni/n-GaAs/In Schottky bariyer diyotunun Akım-Gerilim (I-V) karakteristikleri kullanılmıştır. Schottky diyot yapımında kullanılan n- tipi GaAs yarıiletkeni (Si katkılı), (100) yönelimli ve oda sıcaklığında $7.3 \times 10^{15} \text{cm}^{-3}$ taşıyıcı konsantrasyonuna sahiptir. n- GaAs yarıiletkeninin yüzeyinin organik kirlere arındırılması için kimyasal temizleme işlemi uygulandı. Bu temizleme işlemi için numune 5 dakika boyunca sırasıyla trikloroetilen, aseton ve metanol içerisinde ultrasonik olarak yıkandı. Bu işlemin ardından istenmeyen yabancı maddeleri gidermek için 1 dakika boyunca $\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2 : \text{H}_2\text{O}$ (5:1:1) ile dağlandı ve daha sonra deiyonize su ile yıkandıktan sonra azot gazında (N_2) kurutma işlemi gerçekleştirildi. Temizleme prosedüründen sonra n- GaAs yarıiletkeninin parlak olmayan mat tarafına omik kontak işlemi için In (indiyum) metali termal buharlaştırma yöntemi ile kaplandı. Küçük dirençli ve dayanıklı bir omik kontak oluşturmak için numune, 300°C 'de azot gazı (N_2) ortamında 3 dakika süreyle ısıtılma işlemi gerçekleştirildi. Tavlama işleminden sonra numunenin parlak olan kısmına 1.5 mm çaplı maske yardımıyla Schottky kontaklar oluşturuldu. Bu kontak için Nikel (Ni) metali kullanıldı. Tüm buharlaştırma işlemleri, 10^{-5} Torr basınçlı kaplama ünitesinde ve termal tavlama işlemleri de N_2 atmosferindeki bir kuvars tüplü fırında gerçekleştirildi. Ni/n-GaAs/In Schottky diyotlarının oluşturulmasından sonra numune azot gazında 100°C 'lik adımlarla 200°C 'den 600°C 'ye kadar 1'er dakika ısıtılarak tavlandı. Her tavlama işleminden sonra Schottky diyotun (I-V) karakteristikleri, karanlıkta ve oda sıcaklığında Keithley 487 Picoammeter/Voltage kaynağı kullanılarak ölçüldü.

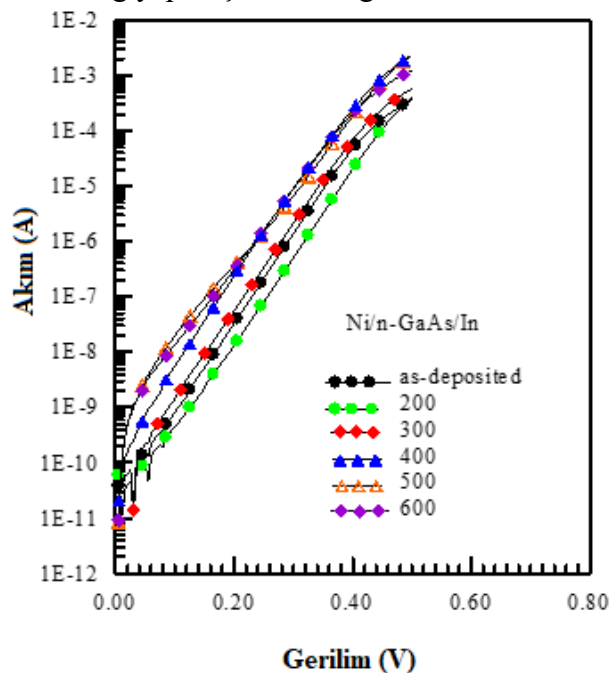
ANFIS model simülasyonu

Ni/n-GaAs/In Schottky diyotlar farklı sıcaklık dereceleri için tavlandı ve akım-gerilim değerleri Keithley 487 cihazı ile kaydedildi. Deneysel veriler giriş ve çıkışı olarak ANFIS sistemi ile modellendi. ANFIS için verilerin oluşturulmasında Matlab yazılımını kullandı. ANFIS eğitim algoritması, Matlab yazılımının bulanık mantık araç kutusuna gömüldü (Matlab, 2009). Ayrıca ANFIS düzenleyici arayüzü kullanışlı ve esnek olduğu için tercih edildi. ANFIS çalışma akışını şu şekilde ifade edebiliriz. ANFIS dört görevi içerir: Veri Yükleme, İlk FIS Yapısını Oluşturma veya Yükleme, FIS'i Eğitim ve Eğitilen FIS'i Doğrulama

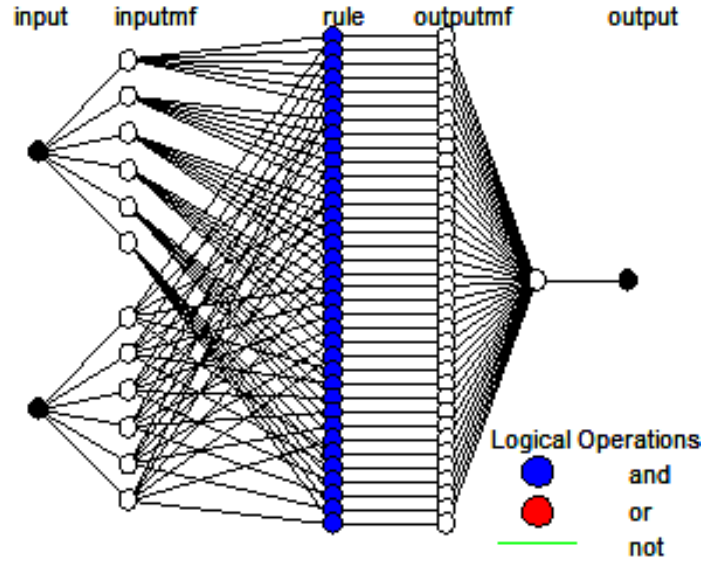
Bir FIS'i eğitmek için, modellenecek sistemin istenen giriş/çıkış verilerini içeren bir veri seti yükleyerek başlamalıyız. ANFIS sisteminin modellenmesine yönelik deneysel veriler üç parametre içermektedir. Bu parametreler sıcaklık, gerilim ve akımdır. Bu parametreler için 3 sütun ve 1500 satırdan oluşan bir veri bloğu oluşturduk. Giriş verileri sıcaklık ve voltajdır, çıkış verileri ise akımdır. Deneysel veriler üç bölüme ayrılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü kısımlar sırasıyla eğitim, test ve veri kontrolüdür. Verileri yükledikten sonra grafikte görüntülenir. FIS eğitimine başlamadan önce başlangıç FIS model yapısını belirlememiz gerekiyor. Model yapısını belirlemek için aşağıdaki görevlerden birini gerçekleştirin: Daha önce kaydedilmiş bir Sugeno tipi FIS yapısını yükleyin veya İlk FIS modelini oluşturun. Verileri yükleyip ilk FIS yapısını oluşturduktan sonra FIS'i eğitebiliriz. Ancak öncelikle Optimizasyon Yöntemi, Adımlar ve Hata Toleransı belirlenmelidir. FIS eğitildikten sonra, test Etmeyi veya veriyi kontrol etmeyi kullanarak modeli doğrulayabiliriz. Bu çalışmada, model test ve eğitim aşmalarından geçirildikten sonra, SBD için çıktı tahmini gerçekleştirildi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmamızda Schottky Bariyer Diyotlarının ANFIS modelinin gerçekleştirmek için MATLAB ANFIS editör araç kutusu kullanıldı. Hibrit ağı modellemek için Şekil 2'de gösterilen deneysel veriler kullanıldı. Şekil 2'de 200⁰ C'den 600⁰ C'e kadar 100⁰ C sıcaklık adımlarla tavlanan ve tavlınmayan Ni/n-GaAs/In Schottky diyotların akım-gerilim karakteristikleri gösterilmektedir. Önceki bölümde deneysel veriler ANFIS modelinin oluşturulmasından ve özelliklerinden bahsedildi. ANFIS modeli oluşturulduktan sonra bu modele ait ağ yapısı Şekil 3'de gösterilmektedir.

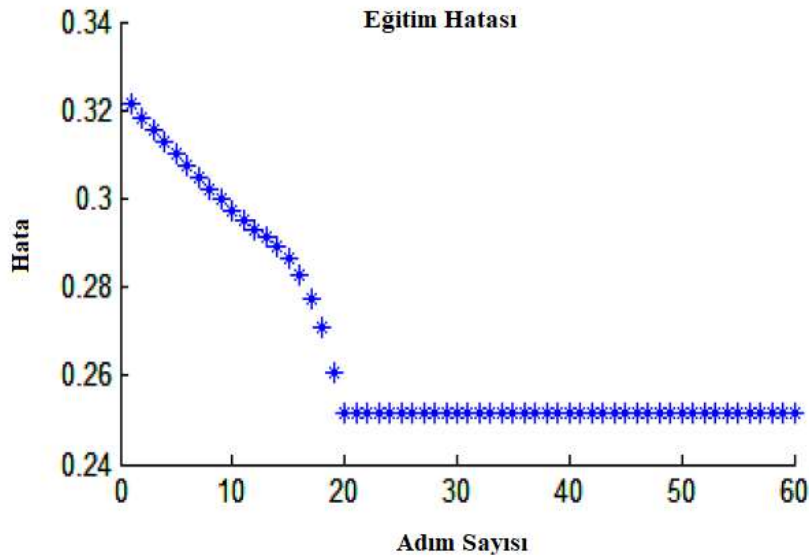


Şekil 2. Deneysel Akım-Gerilim Karakteristikleri



Şekil 3. Hibrit Ağ Yapısı

Hibrit eğitim yöntemi, en küçük kareler ve geriye yayılım yönteminin bir kombinasyonudur. Hata toleransı ve adım sayısı sırasıyla sıfır ve 60 olarak seçilmiştir. Yaklaşık 60 eğitim adımı sonunda, kök ortalama kare hatası Şekil 4'te gösterildiği gibi sabit hale gelmiştir. Bu hata bu model için minimumdur. Çünkü model her tür üyelik fonksiyonu (trimf, trapmf, gbellmf vb.) ve optimizasyon yöntemi ile eğitilmiştir. Denemelerden sonra eğitim hatası minimize edilmiştir.

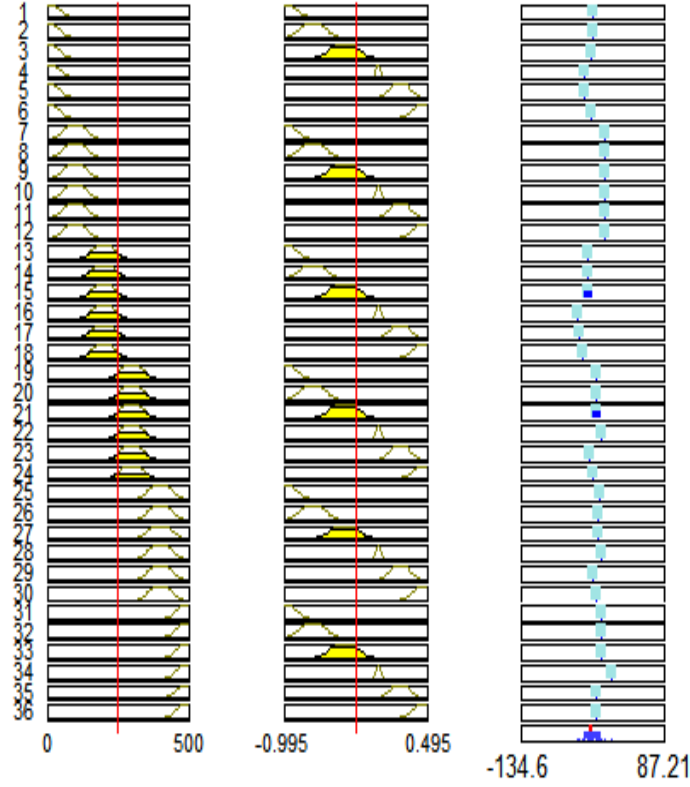


Şekil 4. Eğitim Hatası

Bu model için aşağıdaki kurallar belirlenmiştir:

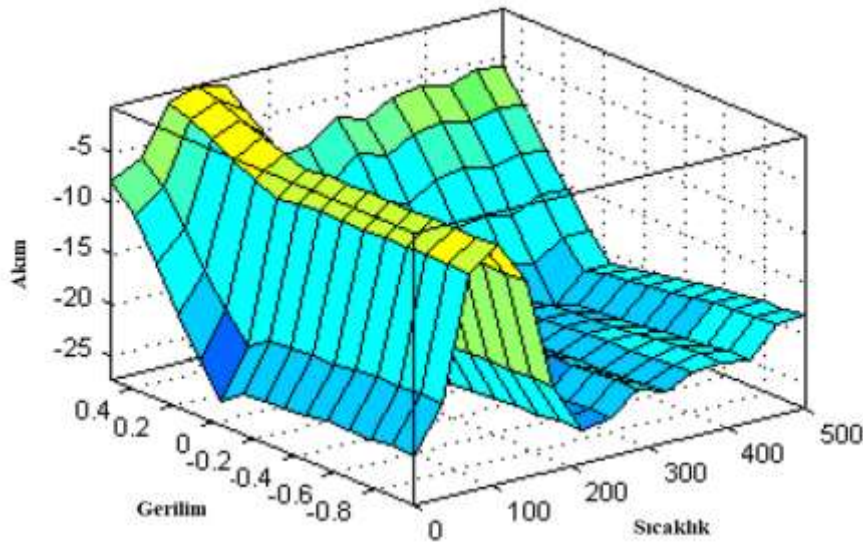
1. (sıcaklık küçük1) ve (gerilim küçük1) ise (akım= $p_1 * \text{sıcaklık} + q_1 * \text{gerilim} + r_1$)
2. Eğer (sıcaklık küçük1) ve (gerilim küçük2) ise (akım= $p_2 * \text{sıcaklık} + q_2 * \text{gerilim} + r_2$)
3. Eğer (sıcaklık küçük1) ve (gerilim orta1) ise (akım= $p_3 * \text{sıcaklık} + q_3 * \text{gerilim} + r_3$)
4. Eğer (sıcaklık küçük1) ve (gerilim orta2) ise (akım= $p_4 * \text{sıcaklık} + q_4 * \text{gerilim} + r_4$)
5. Eğer (sıcaklık küçük1) ve (gerilim büyük1) ise (akım= $p_5 * \text{sıcaklık} + q_5 * \text{gerilim} + r_5$)
6. Eğer (sıcaklık küçük1) ve (gerilim büyük2) ise (akım= $p_6 * \text{sıcaklık} + q_6 * \text{gerilim} + r_6$)
31. Eğer (sıcaklık büyük2) ve (voltaj küçük1) ise (akım= $p_{31} * \text{sıcaklık} + q_{31} * \text{voltaj} + r_{31}$)
32. Eğer (sıcaklık büyük2) ve (gerilim küçük2) ise (akım= $p_{32} * \text{sıcaklık} + q_{32} * \text{gerilim} + r_{32}$)

33. Eğer (sıcaklık büyük2) ve(gerilim orta1) ise (akım= $p_{33} * \text{sıcaklık} + q_{33} * \text{gerilim} + r_{33}$)
 34. Eğer (sıcaklık büyük2) ve(gerilim orta2) ise (akım= $p_{34} * \text{sıcaklık} + q_{34} * \text{gerilim} + r_{34}$)
 35. Eğer (sıcaklık büyük2) ve (gerilim büyük1) ise (akım= $p_{35} * \text{sıcaklık} + q_{35} * \text{gerilim} + r_{35}$)
 36. Eğer (sıcaklık büyük2) ve (gerilim büyük2) ise (akım= $p_{36} * \text{sıcaklık} + q_{36} * \text{gerilim} + r_{36}$)
 Bu modele ilişkin tüm kurallar Şekil 5'te gösterilmektedir.



Şekil 5. Hibrit Ağın Kuralları

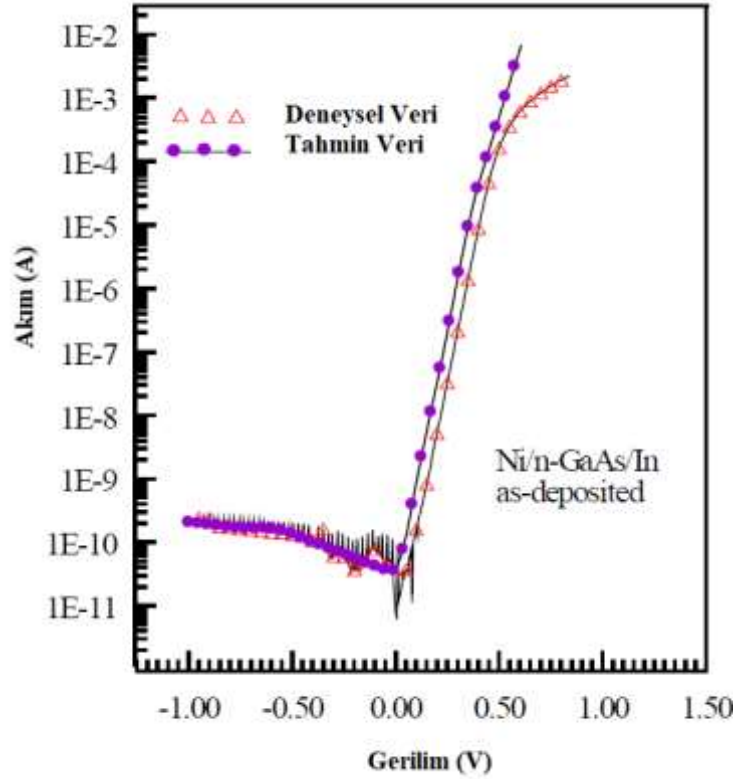
Giriş 1 (tavlama sıcaklığı), giriş2 (gerilim) ve çıkış (akım) parametrelerinin yüzeyi Şekil 6'da gösterilmektedir. Şekil 6'ya göre oldukça karmaşık bir model oluşmuştur.



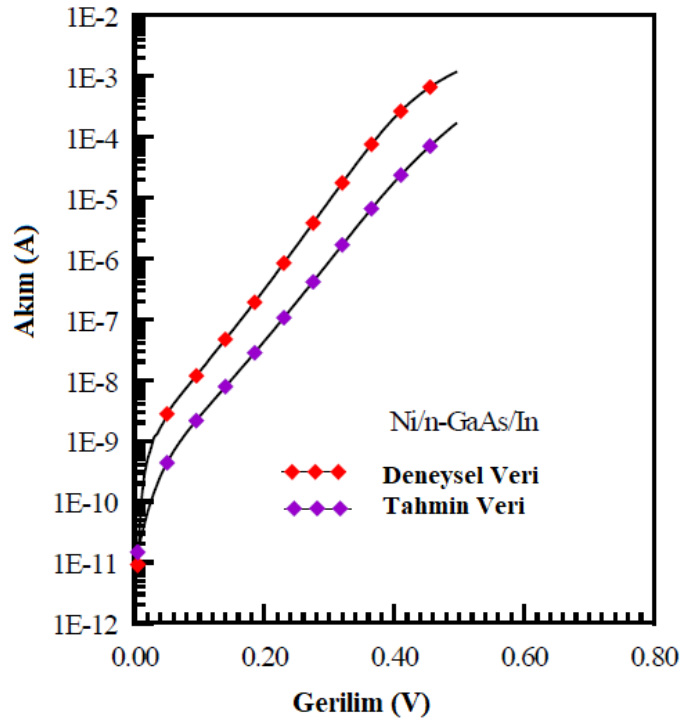
Şekil 6. Anfis Model Yüzeyi

Son olarak eğitim sürecinin ardından tahmin için eğitilen ANFIS modeli kullanıldı. ANFIS'te termal tavlamanın tahmini, Matlab yazılımının evalfis fonksiyonu kullanılarak sağlandı. Şekil 7, Ni/n-GaAs/In Schottky Bariyer Diyotunun ileri ve geri besleme I-V karakteristiklerinin hem deneysel hem

de tahmin değerlerini göstermektedir. Bu sonuçlara ek olarak 600°C 'de tavllanmış Ni/n-GaAs/In SBD'nin ileri besleme I-V karakteristiği verileri de tahmin edildi. 600°C tavlama sıcaklığı için tahmin edilen ve deneysel veriler Şekil 8'de gösterilmektedir.



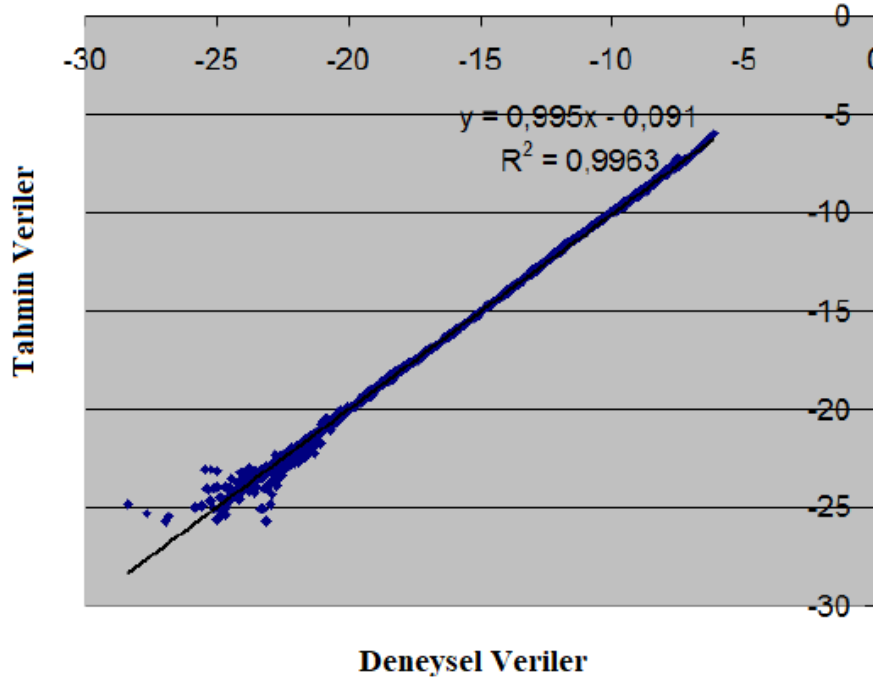
Şekil 7. Ni/n-GaAs/In Schottky Diyotun İleri ve Geri Besleme IV Karakteristiği



Şekil 8. 600°C Tavlama Sıcaklığı İçin Deneysel ve Tahmin Edilen I-V Karakteristiği

Şekil 9, ANFIS modelinin tahmin edilen değerlerinin ve deneysel değerlerinin dağılım diyagramlarını göstermektedir. Şekil 9'dan tüm veri noktalarının $y=x$ çizgisine yakın dağıldığı

görülebilir. Verilerin uyum eğrisi $y=0,995x-0,091$ olduğundan eğim ve kesişme oranı 1 ve 0'a çok yakındır. Yani tahmin edilen değerler akımın deneysel değerlerine çok yakındır.



Şekil 9. ANFIS Modeli İçin Tahmin Edilen ve Deneysel Verilerin Dağılım Diyagramı

Son olarak ANFIS'in tahmin doğruluğu oldukça yüksektir. ANFIS yöntemi ile deneysel veriler ile tahmin edilen veriler arasındaki ilişki, bu yöntemin Schottky Bariyer Diyotların termal tavlama tahmin etmek ve modellemek için güçlü bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada, Ni/n-GaAs/In SBD'ler farklı sıcaklık adımlarında tavlama ve elde edilen I-V karakteristik değerleri kaydedilmiştir. Bu veriler kullanılarak tavlama süreci ANFIS ile modellenmiştir. Ardından deneysel veriler ve tahmin edilen veriler karşılaştırılmıştır. Hem grafiksel eğriler hem R^2 değerinin bire yakın olması modelin başarısını göstermektedir. Sonuç olarak ANFIS modelinin performansı, fiziksel tavlama deneylerindeki belirsizlikleri en aza indirmek için iyi bir yaklaşımdır. Yukarıdaki açıklamalardan ve tartışmalardan aşağıdaki sonuçlar çıkarılabilir:

1.Schottky bariyer diyotlarının termal stabilitesi ve termal tavlama süreci, deneysel veriler olmadan deneysel denemelerden önce tahmin edilebilmektedir.

2.Bu model sayesinde Schottky bariyer diyotunun gerilim-akım eğrileri farklı tavlama sıcaklıklarında çizilebilmektedir.

3.Belirsizlikler ve kayıp veriler ANFIS modeli kullanılarak hesaplanabilmektedir.

4.Termal tavlama işlemi daha hızlı ve daha kolay yapılabilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada deneysel ölçümlerin gerçekleştirilmesinde emeği geçen Prof. Dr. Abdülmecit TÜRÜT'e teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Brillson, L.J., (1982). *Metal-semiconductor interfaces, Surf. Sci.*, 299-300:909-927.
- Cheung, S.K., Cheung, N. W. (1986). Extraction of Schottky diode parameters from forward current voltage characteristics. *Appl. Phys. Lett.*, 49 (2): 85–87.
- Doğan, H., Yıldırım, N., Turut, A. (2008). Thermally annealed Ni/n-GaAs (si)/In Schottky barrier diodes, *Microelectronic engineering*, 85(4): 655-658.
- Interfaces (Ed: C.W. Wilmsen), *Plenum Press, NewYork*, pp. 73–163, <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4835-1>.
- Jang, J. S. R., (1993) ANFIS: Adaptive-network-based fuzzy inference system, *IEEE Trans. Syst., Man, Cybern.*, 23: 665-685.
- Jang, J., (1993). *IEEE Trans. Syst. Man Cybern.* 23(3):665.
- Lahav, A., Eizenberg, M., Komem, Y. (1986) *J. Appl. Phys.* 60:991.
- Rhoderick, E.H. (1982). Metal-semiconductor contacts, *IEE Proc. I Solid State Electron Devices*, 129 1-14. <https://doi.org/10.1049/ip-i-1.1982.0001>.
- Robinson, G. Y. (1985) *Physics and Chemistry of III–V Compound Semiconductor*
- S. Zhu, Van Meirhaeghe R.L, Forment S, Ru GP and Li BZ, *Solid-State Electron.* 48,29 (2004).
- Sands, T. (1989). *Mater. Sci. Eng.* B1, 289.
- Sands, T., Chan, W.K., Chang, C.C., Chase, E.W., Keramidis, V.G. (1988). *Appl. Phys. Lett.*, 52.
- Sze, S.M., Mattis, D.C. (1970). *Physics of semiconductor devices, Physics Today*, 23(6):75. <https://doi.org/10.1063/1.3022205>.
- Takagi, T., Sugeno, M., (1983) *Proceeding of IFAC Symposium Fuzzy Information, Knowledge Representation and Decision Analysis, Marseilles, France*, p. 55.
- Takagi, T., Sugeno, M., (1985) *IEEE Trans. Syst. Man Cybern.*, 15:116.
- Tung, R. (2001). Recent advances in Schottky barrier concepts, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 35(1):1-138. [https://doi.org/10.1016/S0927-796X\(01\)00037-7](https://doi.org/10.1016/S0927-796X(01)00037-7).
- Van Meirhaeghe, R. L., Laflère W. H. and Cardon, F. (1994) *J. Appl. Phys*, 76: 403-406. <https://doi.org/10.1063/1.357089>.
- Yıldırım N, Turut A And Dogan H. (2018) Current–Voltage Characteristics Of Thermally Annealed Ni/N-Gaas Schottky Contacts. *Surface Review and Letters*, 25: 1850082.
- Zhu, S., Van Meirhaeghe, R. Forment, S., Ru, G., Li, B. (2004). Effects of the annealing temperature on Ni silicide/n-Si(100) Schottky contacts. *Solid-State Electronics*. 48: 29-35.

Atf İçin: Bozavlı, U., Yılmaz, M. ve Çorapsız, M. F. (2024). Elektrik Dağıtım Transformatörlerinde Güç Dengesizliğinin Fotovoltaik Solar Paneller ile Azaltılması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 706-717.

To Cite: Bozavlı, U., Yılmaz, M. & Çorapsız, M. F. (2024). Mitigation of Power Unbalance in Electrical Distribution Transformers with Photovoltaic Solar Panels. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 706-717.

Elektrik Dağıtım Transformatörlerinde Güç Dengesizliğinin Fotovoltaik Solar Paneller ile Azaltılması

Umut BOZAVLI¹, Mehmet YILMAZ², Muhammed Fatih ÇORAPSIZ^{2*}

Öne Çıkanlar:

- Transformatör merkezinin çatısına GES kurulumu yapıldı
- Transformatörlerin faz dengesizliğinde iyileştirme sağlandı
- Elektrik dağıtım sisteminde yenilenebilir enerji kaynaklarının oranı artırıldı

Anahtar Kelimeler:

- Güç dengesizliği
- Dağıtım transformatörleri
- Güneş enerji sistemleri

ÖZET:

Bu makalede transformatör merkezlerinin çatısına monte edilecek fotovoltaik (PV) güneş panelleri yardımıyla üç fazlı elektrik dağıtım transformatörlerinin fazları arasında görülen güç dengesizliğinin iyileştirilmesine yönelik bir tasarım önerilmiştir. Tasarımın MATLAB/Simulink üzerinden benzetim çalışmaları yapılarak simülasyon sonuçları gözlemlenmiş ve dört transformatör merkezinden alınan gerçek zamanlı faz akım verileri ile karşılaştırılmıştır. Tasarımda geliştirilen Transfer Anahtarlayıcısı ve Kontrol Sistemi (TAKS) algoritmasında transformatörün yüzde akım dengesizlik oranı (%PCUR) tespit edilerek PV panellerden üretilen gücün transformatörün uygun fazına enjekte edilmesi sağlanmaktadır. Bu bağlantının sorunsuz şekilde gerçekleşmesi için faz kilitleme döngüsü (FKD) kullanılmaktadır. Makalede TAKS devreye girmeden önce transformatörde görülen faz dengesizliği ile TAKS devreye girdikten sonra transformatörde görülen faz dengesizliği için simülasyon sonuçları üzerinden performans analizi yapılmıştır. Erzurum, Ağrı ve Erzincan illerinde bulunan ve toplamda dört adet transformatörden alınan gerçek zamanlı veriler üzerinden yapılan simülasyon çalışmalarında, önerilen yaklaşımın transformatördeki güç dengesizliğini azaltıcı yönde etki ettiği görülmüştür. Ayrıca her bir transformatör için dağıtım sistemine yaklaşık 3.6 kW ilave enerji sağlanmaktadır. Bunun yanında transformatörlerden çekilen ortalama akım değerlerinin de azaldığı gözlemlenmiştir.

Mitigation of Power Unbalance in Electrical Distribution Transformers with Solar Photovoltaic Panels

Highlights:

- Solar Power Plant (SPP) was installed on the roof of the transformer center
- Improvement in power unbalance in transformers has been achieved
- The rate of renewable energy sources in the electricity distribution system has been increased

Keywords:

- Power unbalance
- Distribution transformers
- Solar power systems

ABSTRACT:

In this article, a design is proposed to improve the power unbalance between the phases of three-phase electricity distribution transformers with the help of photovoltaic (PV) solar panels to be mounted on the roof of transformer centers. Simulation studies of the design were performed via MATLAB/Simulink and simulation results were observed and compared with real-time phase current data from four transformer centers. In the Transfer Switcher and Control System (TSCS) algorithm developed in the design, the percentage current unbalance rate (PCUR%) of the transformer is determined and the power produced from the PV panels is injected into the appropriate phase of the transformer. Phase lock loop (PLL) is used to ensure this connection occurs smoothly. In this study, performance analysis was made based on simulation results for the phase unbalance seen in the transformer before TSCS was activated and for the phase unbalance seen in the transformer after TSCS was activated. In simulation studies conducted on real-time data taken from a total of four transformers in Erzurum, Ağrı and Erzincan provinces, it was seen that the proposed approach had a reducing effect on the power unbalance in the transformer. In addition, approximately 3.6 kW of additional energy is provided to the distribution system for each transformer. In addition, it has been observed that the average current values drawn from the transformers has also decreased.

¹Umut BOZAVLI ([Orcid ID: 0009-0007-8665-4441](https://orcid.org/0009-0007-8665-4441)), TEDAŞ 4. Regional Directorate, Erzurum, Türkiye

²Mehmet YILMAZ ([Orcid ID: 0000-0001-7624-4245](https://orcid.org/0000-0001-7624-4245)), Atatürk University, Electrical-Electronics Engineering, Erzurum, Türkiye

^{2*}Muhammed Fatih ÇORAPSIZ ([Orcid ID: 0000-0001-5692-8367](https://orcid.org/0000-0001-5692-8367)), Atatürk University, Electrical-Electronics Engineering, Erzurum, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Muhammed Fatih ÇORAPSIZ, e-mail: corapsiz@atauni.edu.tr

This study was produced from Umut BOZAVLI's Master's thesis.

INTRODUCTION

The demand for the use of electrical energy is increasing worldwide and the electrical energy sector makes significant contributions to the economic growth and development of countries around the world (Strielkowski et al., 2021). For this reason, it is of great importance to deliver electrical energy to consumers in an uninterrupted, high-quality, cost-effective and safe manner (Yurdabak & Şekkeli, 2014).

The generation, transmission and distribution of electrical energy is generally done with three-phase systems. During the first generation, the current, voltage and phase angle values of these three phases are balanced with each other (El-Hawary, 2008). However, while the produced energy is delivered to consumers, factors such as the formation of harmonics in voltage and currents, sudden voltage drops, decrease in power factor and power unbalance prevent the quality transfer of power (Barutçu & Erduman, 2023).

Balance in electricity distribution systems; it is defined as the effective values of the current and voltage flowing through the phases in the system being equal and the angles between the phases being 120° (Douglass et al., 2016). Unbalance is when current and voltage effective values and phase angles are different from each other (Rodriguez et al., 2015). Balanced and unbalanced current and voltage phasors are shown in Figure 1.

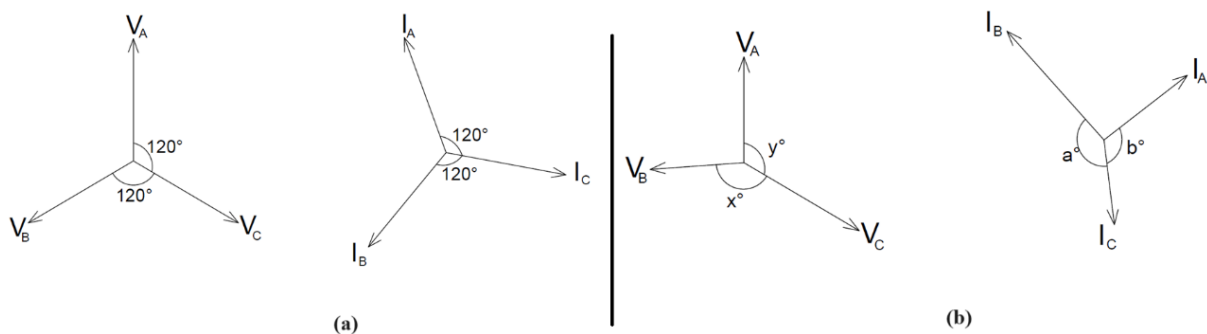


Figure 1. (a) Balanced current and voltage phasors (b) Unbalanced current and voltage phasors

The Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE) uses the phase-neutral voltage to measure voltage unbalance (Pillay & Manyage, 2001). To express the V_{pn} phase-neutral voltage and the V_{ave} average value of voltages, the percentage voltage unbalance rate (PVUR%) is calculated as in Equation 1 (Özan, 2020).

$$PVUR\% = \frac{\text{Max}(|V_{pn} - V_{ave}|)}{V_{ave}} \cdot 100 \quad (1)$$

Phase unbalance occurs in three different ways: voltage unbalance, current unbalance and power unbalance. Although current and power unbalance are calculated in a similar way to voltage unbalance but current and power unbalance do not have any limitations in the standards like voltage unbalance (Özan, 2020).

According to European Standards, it is stated that voltage unbalance should be limited to 2% of the 10-minute measurement average at low voltage (LV) level (Markiewicz & Klajn, 2004). However, voltage unbalance is increase up to 10% in rural areas depending on load distribution (Najafi, 2016).

An average unbalance of 20% in phase currents causes an unbalance of 2-3% in phase voltages (Ay, 1989). In this way, it is possible to establish a relationship between voltage unbalance and current unbalance.

The most important reason for phase unbalance is single-phase loads that are not evenly distributed in the grid (Jouanne & Banerjee, 2001). Moreover intensive single phase supply of residential

subscribers in distribution grids, faults occurring in single phase, large power industrial loads, unbalanced distribution of load in grid designs, impedance differences due to unequal conductor distances can cause unbalance in the system (Najafi, 2016).

Phase unbalance causes various negativities. It causes the useful life of the facilities and equipment in the distribution systems to expire prematurely before their economic life expires. Overheating occurs in transformers. Residual currents occurring in unbalanced systems flow through the neutral conductor in star-connected systems, causing energy loss (Kongtrakul et al., 2023). Unbalanced current and voltage draws cause negative and zero components of current and voltage in distribution systems (Jouanne & Banerjee, 2001). Unbalanced currents cause increased vibration and mechanical stress in transformers. Transformer efficiency decreases. Transformers create noise during operation. In unbalanced loads, harmonic currents of three and multiples interfere with the grid signals (Cuong & Nhu, 2022).

This article presents the Transfer Switcher and Control System (TSCS) algorithm for reducing phase unbalance in transformers. The algorithm is based on the principle of determining the percentage current unbalance rate (PCUR%) of the transformer and in line with this determination, the power obtained from the photovoltaic (PV) panels installed on the roof of the building type transformer center is injected into the appropriate phase of the transformer. In the article, the change between the phase unbalance seen in the transformer before TSCS is activated and the phase unbalance seen in the transformer after TSCS is activated is investigated. The performance of the proposed algorithm is simulated via MATLAB/Simulink and demonstrates the effectiveness of TSCS in reducing the PCUR% seen in the transformer. The proposed algorithm has potential application in existing and newly established electrical distribution transformer centers. With this design it is aimed to;

- Mitigation of the power unbalance that occurs in the LV output of electrical distribution transformers inside the transformer center buildings,
- Effective and efficient use of roofs of transformer centers,
- Contributing to the reduction of carbon emissions,
- Increasing the rate of renewable energy sources in the electricity distribution system with the help of photovoltaic (PV) panels.

MATERIALS AND METHODS

In this study, a system design consisting of;

- A transformer center with a length of 7.5 meters and a width of 2.5 meters,
- 6 solar panels with 600 W power (it was calculated according to the dimensions of the transformer centers roof)
- Distribution transformer (MV/LV),
- Loads connected to the grid,
- DC -DC boost converter circuit,
- Unipolar PWM switched single-phase DC-AC inverter,
- Transfer switcher and control system (TSCS),
- Maximum power point tracking (MPPT) circuit,
- Proportional resonance (PR) controller circuit,
- LCL low-pass filter circuit,
- Phase lock loop (PLL) circuit.

The control scheme of the design is shown in Figure 2.

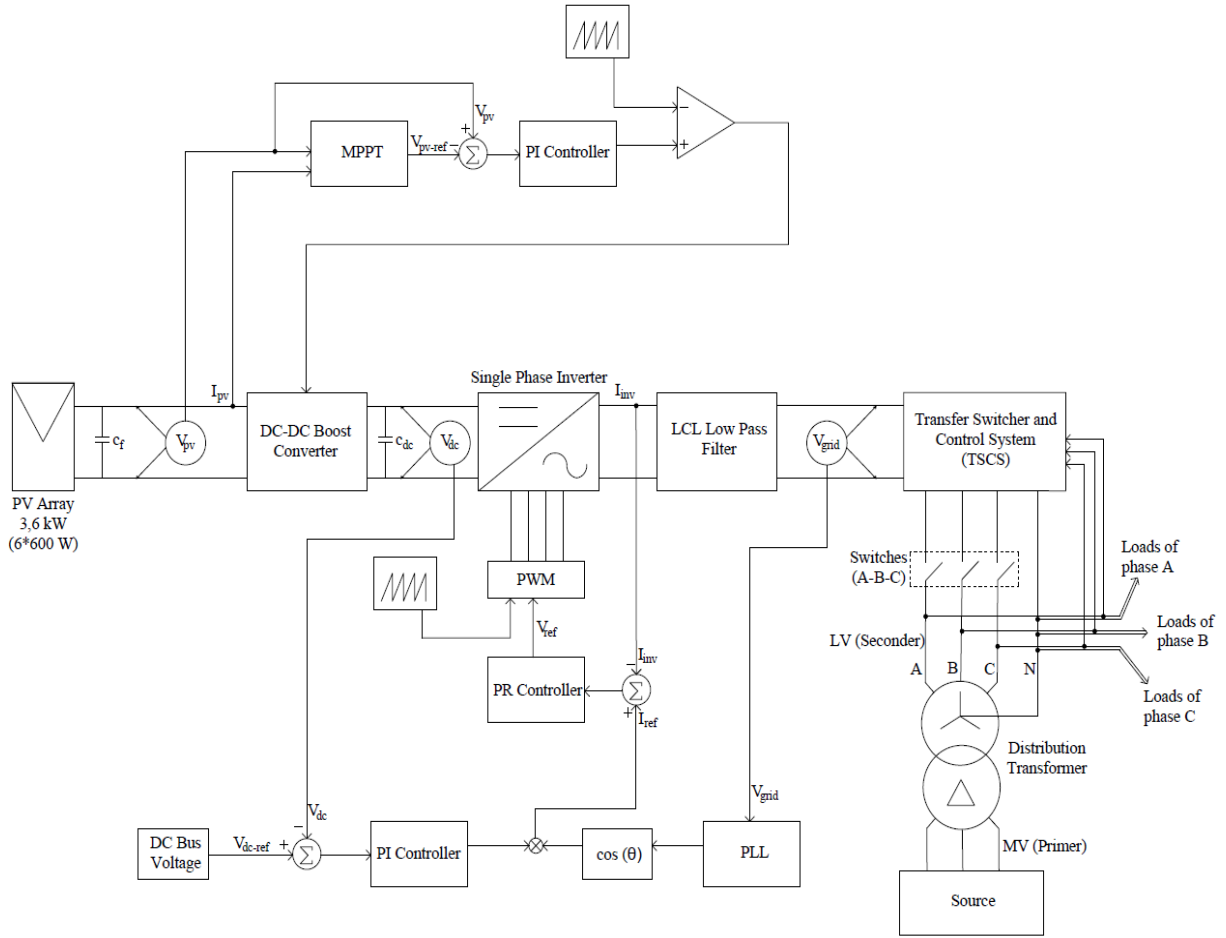


Figure 2. The control schema of designed system

The basic values to be used in this simulation are shown in Table 1 where V_{grid} refers to the effective value of the phase-neutral voltage of the phases in the LV grid, P_{pv} refers to the maximum power to be obtained from solar panels that can fit on the transformer center roof, V_{dc} refers to the voltage level at which the string voltage is desired to be increased, T and G represent the operating conditions of PV panels, I_{rip} refers to the limitation used in filter circuit design.

Table 1. The basic values used in the simulation

| Parameters | Icon | Values |
|--------------------------------|------------|-----------------------|
| Main Voltages | V_{grid} | 231 V |
| Rated Power | P_{pv} | 3.6 kW (6*600 W) |
| DC Bus Voltage | V_{dc} | 400 V |
| PV Array Maximum Power Voltage | V_{mpp} | 205.8 V |
| PV Array Open Circuit Voltage | V_{oc} | 249 V |
| Main Frequency | f | 50 Hz |
| Maximum Current Ripple Rate | I_{rip} | 20% |
| Ambient Temperature | T | 25°C |
| Solar Irradiation | G | 1000 W/m ² |

This study is designed as a grid-connected system. Depending on the size of the transformer center, 6 solar panels with a power of 600 W can be mounted on the roof of the building. In this way, it is planned to obtain 3.6 kW of power. PV panels are connected to each other in a single parallel string.

The maximum power voltage of the array consisting of solar panels is 205.8 V and the DC bus voltage is determined as 400 V. Therefore, a DC-DC boost converter circuit was used to increase the input voltage from 205.8 V to 400 V.

MPPT circuit was used to monitor the maximum power point of the PV panel output depending on changing environmental conditions such as temperature and solar irradiation (Bollipo et al., 2020). Various algorithms are used in the MPPT circuit (Ilyas et al., 2018). The increasing conductivity algorithm was preferred in the research. The increasing conductivity algorithm is based on the comparison of the conductivity (I/V) and increasing conductivity (dI/dV) of the PV panel, and its mathematical expression is included in Equation 2 (Keskin, 2014).

$$\frac{dP}{dV} = \frac{d(IV)}{dV} = I + V \frac{dI}{dV} = I + V \frac{\Delta I}{\Delta V} \quad (2)$$

DC signals given to the single-phase inverter input from the DC-DC boost converter circuit are converted into AC signals with the help of the inverter. AC signals depend on the conduction and cut-off times of the semiconductor elements in the inverter (Fidan, 2020). Unipolar PWM switching inverter is preferred in the design because it reduces switching losses and has higher efficiency (Namboodiri & Wani, 2014). However, PWM technique causes the production of unwanted harmonics. A low-pass LCL filter circuit is used at the inverter output to filter these harmonics through a filter circuit and keep the total harmonic distortion (THD) rate within the limits (Cossoli et al., 2018).

The synchronized reference plane method (d-q method) was used to enable the PLL to synchronize the signals generated from PV panels with the grid signals. Thanks to this method, the power produced from PV panels can be injected into the desired phase of the transformer. The park transform is used to transform the generated variables V_α and V_β into the rotating axis set variables V_d and V_q . The parking transformation matrix is given in Equation 3 (Yılmaz et al., 2021).

$$\begin{bmatrix} V_d \\ V_q \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} V_\alpha \\ V_\beta \end{bmatrix} \quad (3)$$

Since the traditional PI controller has some disadvantages for current control in the system, a proportional resonance (PR) controller has been recommended. PR controllers can achieve zero steady-state error because they can provide infinite gain at the fundamental frequency. The proposed controller is implemented around a fixed frequency to regulate both the positive and negative components of the current (Sagiraju et al., 2017).

The difference of this study from other studies is the use of TSCS in the design. In TSCS algorithm first determines the average current value of the A, B, C phases. The effective average value calculation of phase currents is shown in Equation 4, where I_{TR-a} , I_{TR-b} and I_{TR-c} refers to phase currents and I_{TR-ave} refers to the average value of the phase currents.

$$I_{TR-ave} = \frac{I_{TR-a} + I_{TR-b} + I_{TR-c}}{3} \quad (4)$$

TSCS calculates the absolute value of the maximum deviation amount in phase currents and enables the determination of the highest deviation amount between these three values. The PCUR% value is obtained by dividing the highest deviation amount determined by the average current value. If the PCUR% value is below 5%, the system continues to be monitored by TSCS. If the PCUR% value is above 5%, the highest phase current of the transformer is determined by TSCS and the switch for this phase is closed. Thus, the energy obtained from PV panels is transferred to this phase. The flow chart of the proposed TSCS system is presented in Figure 3.

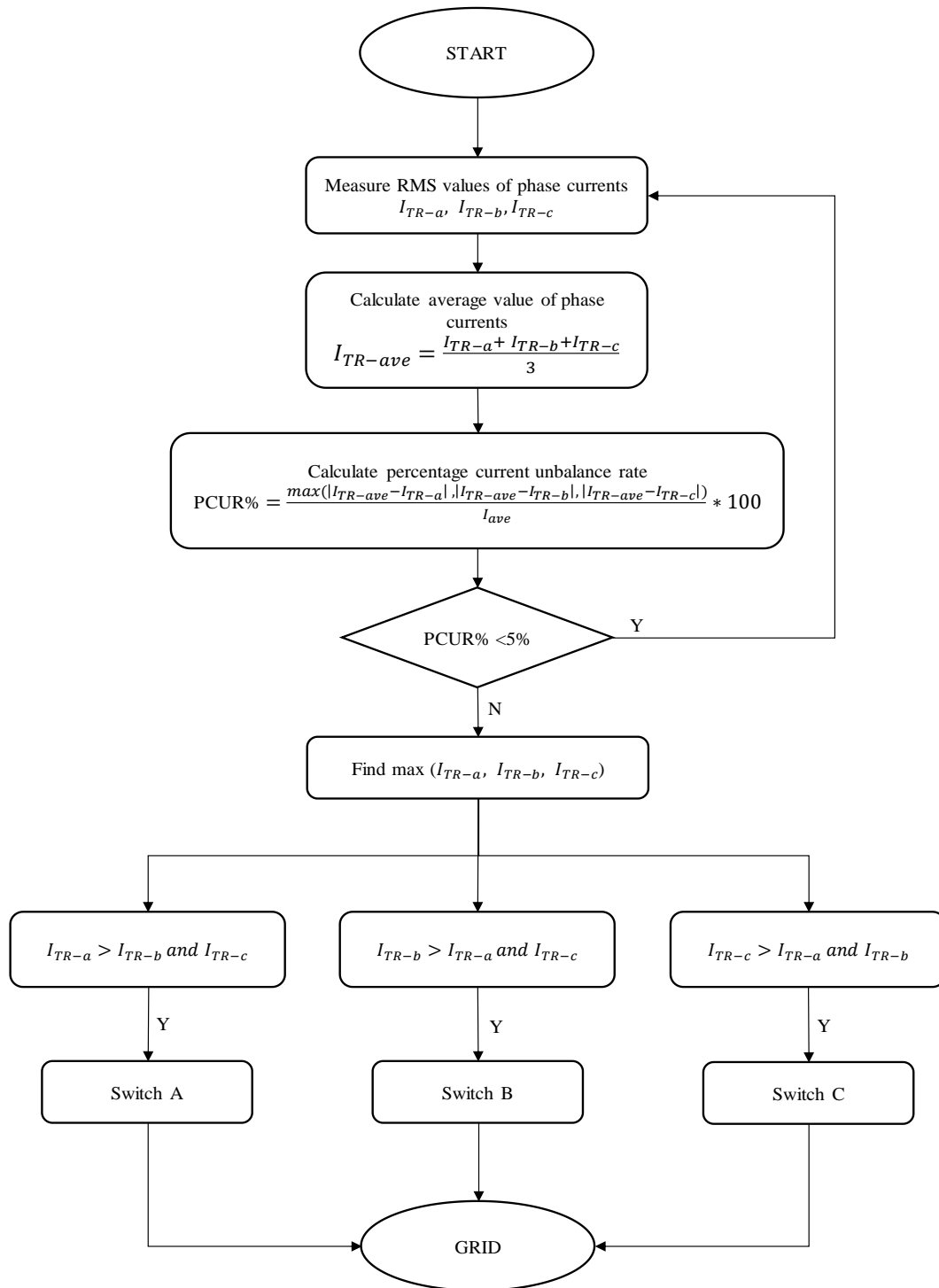


Figure 3. The flow chart of TSCS

Since a phase lock loop (PLL) is used in the system, TSCS is integrated into the phase angle and frequency values of whichever phase is switched. After this stage, TSCS continues to monitor the grid and switches between phases A, B or C to distribute the generated energy according to the change in current values.

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, real-time data was taken from the LV outputs of four transformers located in Erzurum, Erzincan and Ağrı provinces. The simulation of the distribution system created using these data was made in the MATLAB/Simulink environment. The changes of the phase currents obtained from

these simulation studies against time are presented. It has been observed that TSCS uses the data received from the system to transfer energy to the phase that draws the most current and reduces phase unbalances. The current values before and after transferring energy to any phase by TSCS switching are given in a comparative table.

The first simulation study was carried out on the data of the 160 kVA transformer in Erzincan, taken on 27 November 2023 at 12:00, and the effective values of the instantaneous currents seen at the LV outputs of the transformer are shown in Table 2.

Table 2. First transformer LV output instantaneous current values

| Phase currents | Current Values (Real) (Before TSCS was activated) | Current Values (Simulation) (After TSCS was activated) |
|----------------|--|---|
| I_{TR1-A} | 65.67 A | 55.58 A |
| I_{TR1-B} | 47.99 A | 47.99 A |
| I_{TR1-C} | 55.91 A | 55.91 A |

The PCUR% value measured before TSCS was activated was found to be 16.16%. First transformer current signals of phases A, B and C before TSCS was activated are seen in Figure 4.

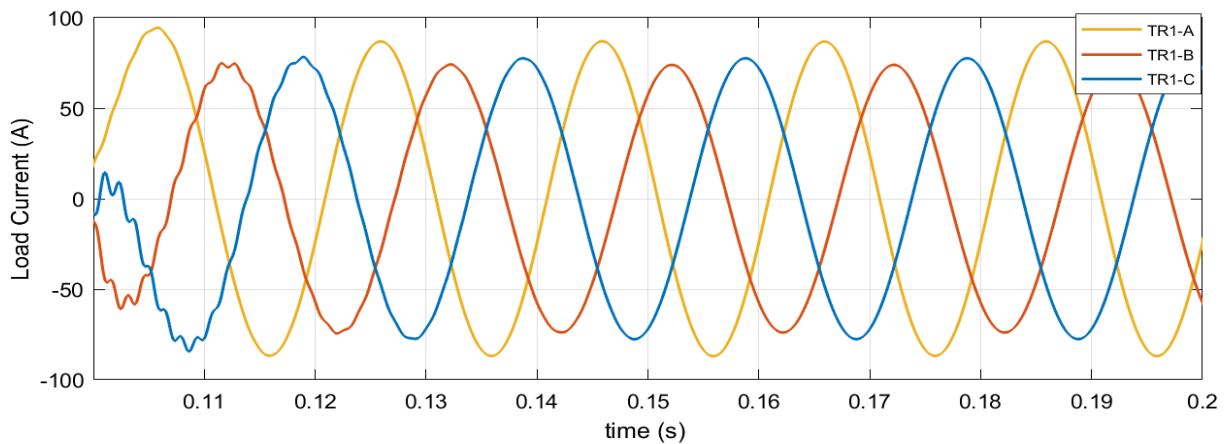


Figure 4. First transformer current signals before TSCS was activated

After TSCS was activated it is determined that the phase that draws the most current from the transformer is phase A. TSCS sends a command to the transfer switch to connect the power produced by the PV panels to phase A, and switch A is energized. Thus, the I_{TR1-A} value decreases from 65.67 A to 55.58 A, the $I_{TR1-Ave}$ value decreases from 56.52 A to 53.16 A and the PCUR% value decreases from 16.16% to 9.72%. The signals seen in the first transformer phase currents after TSCS is activated are shown in Figure 5.

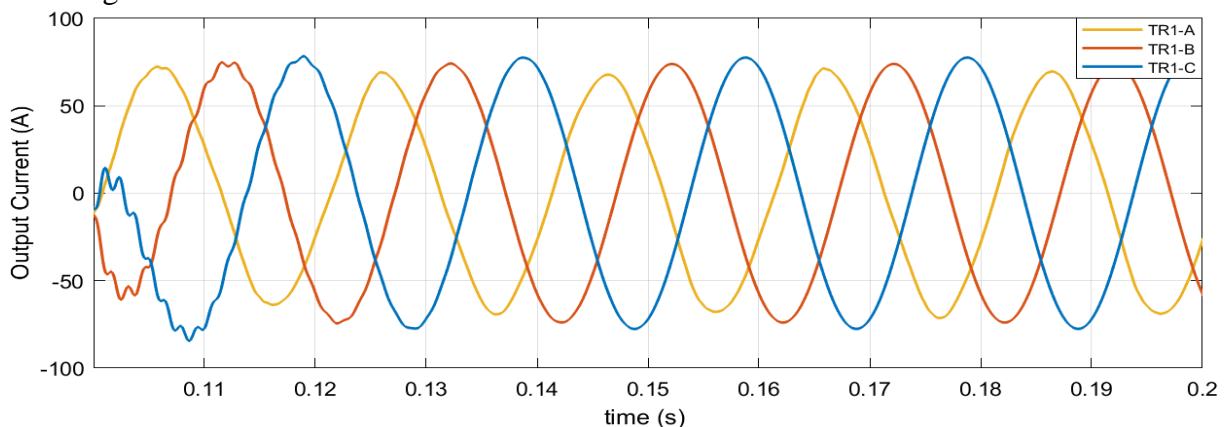


Figure 5. First transformer current signals after TSCS was activated

In the other simulation study, data taken from the 160 kVA transformer in Erzurum province on 18.12.2023 at 16:00 was used. The effective values of the instantaneous currents seen at the LV outputs of the second transformer are seen in Table 3.

Table 3. Second transformer LV output instantaneous current values

| Phase currents | Current Values (Real) (Before TSCS was activated) | Current Values (Simulation) (After TSCS was activated) |
|----------------|--|---|
| I_{TR2-A} | 36.51 A | 36.51 A |
| I_{TR2-B} | 54.16 A | 43.64 A |
| I_{TR2-C} | 42.26 A | 42.26 A |

Before TSCS was activated, the PCUR% value was measured as 22.17%. The second transformer current signals before TSCS is activated are presented in Figure 6.

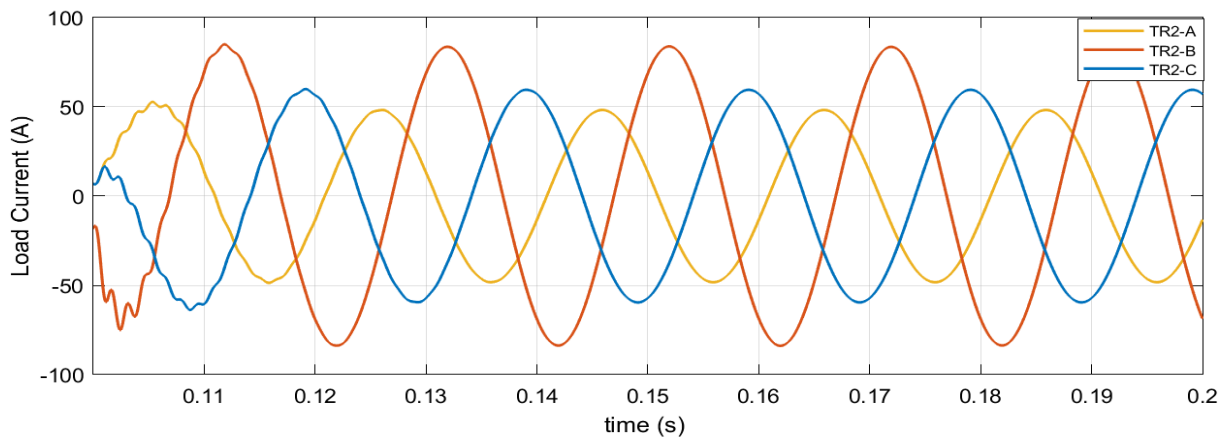


Figure 6. Second transformer current signals before TSCS was activated

In order to demonstrate the effectiveness of the proposed method, real-time data from Erzurum province was used. It was observed that the current values of the phases before TSCS activation for this transformer were 36.51 A, 54.16 A and 42.26 A, respectively. When TSCS was activated, it was observed that the phase currents were 36.51 A, 43.64 A and 42.26 A and the current value in phase B was reduced. Thus, the $I_{TR2-Ave}$ value was reduced from 44.31 A to 40.8 A, thus reducing the PCUR% value from 22.17% to 10.53%. The current changes seen in the second transformer phase currents after TSCS is activated are shown in Figure 7.

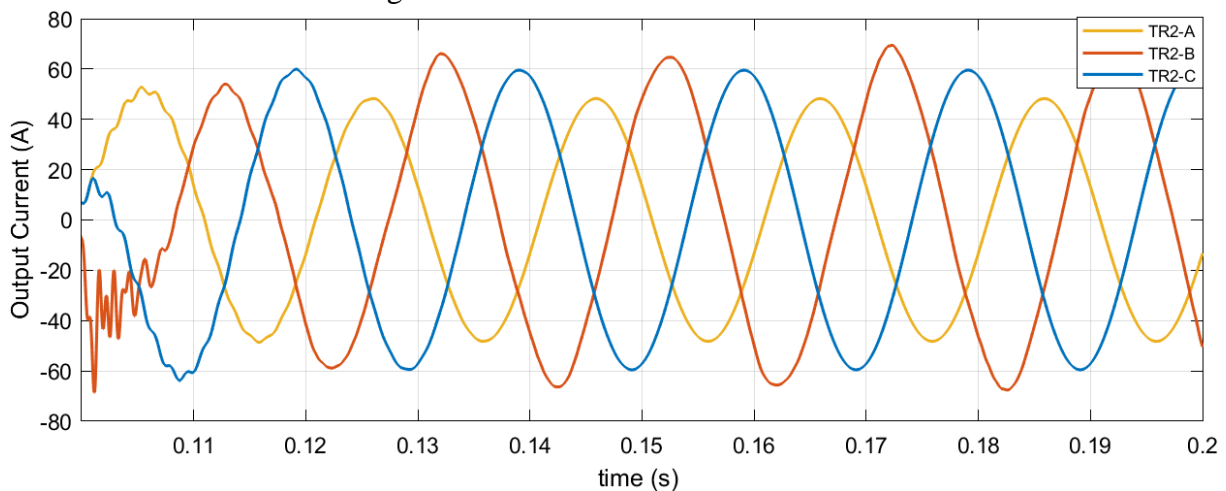


Figure 7. Second transformer current signals after TSCS was activated

The third simulation study was carried out on December 18, 2023 at 16:00 with data taken from the 160 kVA transformer. The effective values of the instantaneous current seen at the LV outputs of the transformer located in Ağrı are seen in Table 4.

Table 4. Third transformer LV output instantaneous current values

| Phase currents | Current Values (Real) (Before TSCS was activated) | Current Values (Simulation) (After TSCS was activated) |
|----------------|--|---|
| I_{TR3-A} | 18.33 A | 18.33 A |
| I_{TR3-B} | 18.05 A | 18.05 A |
| I_{TR3-C} | 42.03 A | 31.62 A |

Before TSCS was activated, the PCUR% value of the transformer was observed to be 60.80%, and the current signals of phases A, B and C are shown in Figure 8.

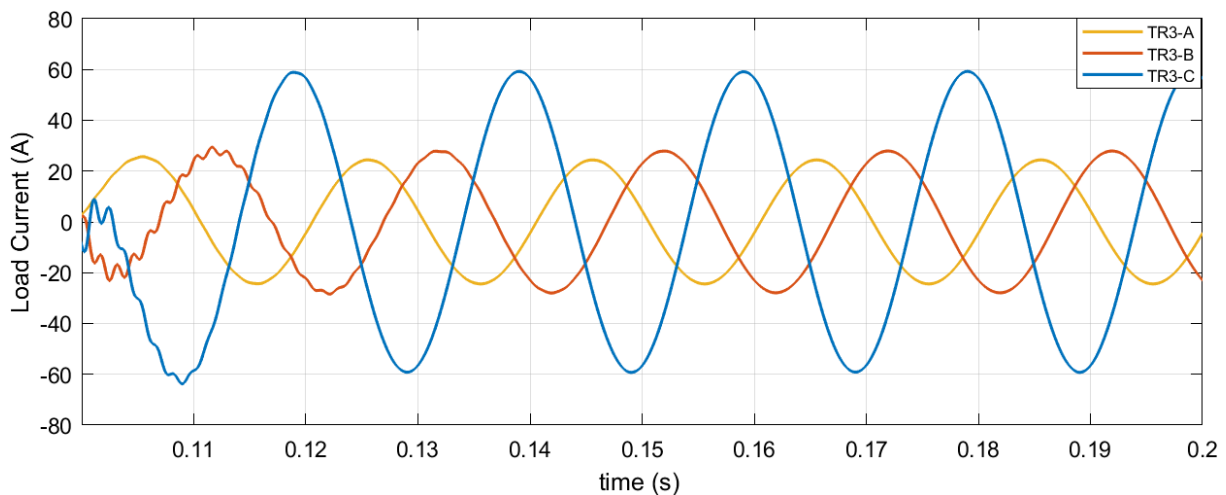


Figure 8. Third transformer current signals before TSCS was activated

TSCS was activated because the PCUR% value was above 5% in the measurement made with the TSCS algorithm. In the measurement, it was determined that the phase that draws the most current from the transformer is phase C. TSCS enabled the power generated from PV panels to be injected into this phase by energizing the C switch. Thus, the I_{TR3-C} value decreased from 42.03 A to 31.62 A and the PCUR% value decreased from 60.80% to 39.5%. The signals seen in the third transformer phase currents after TSCS is activated are shown in Figure 9.

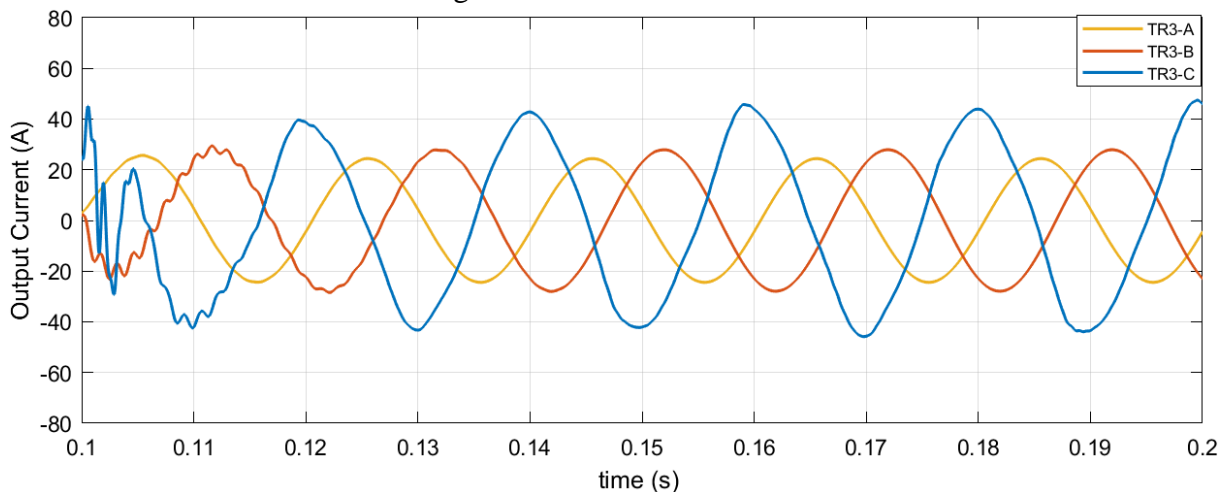


Figure 9. Third transformer current signals after TSCS was activated

The fourth transformer for which the simulation study will be carried out is located in Erzurum and has a power of 160 kVA. The current values seen on the secondary side of the transformer at 12:00 on 18.12.2023 are presented in Table 5.

Table 5. Fourth transformer LV output instantaneous current values

| Phase currents | Current Values (Real) (Before TSCS was activated) | Current Values (Simulation) (After TSCS was activated) |
|----------------|--|---|
| I_{TR4-A} | 20.46 A | 20.46 A |
| I_{TR4-B} | 44.14 A | 31.4 A |
| I_{TR4-C} | 24.79 A | 24.79 A |

The PCUR% value measured before TSCS was activated was 48.14%. The current signals of phases A, B and C before TSCS is activated are shown in Figure 10.

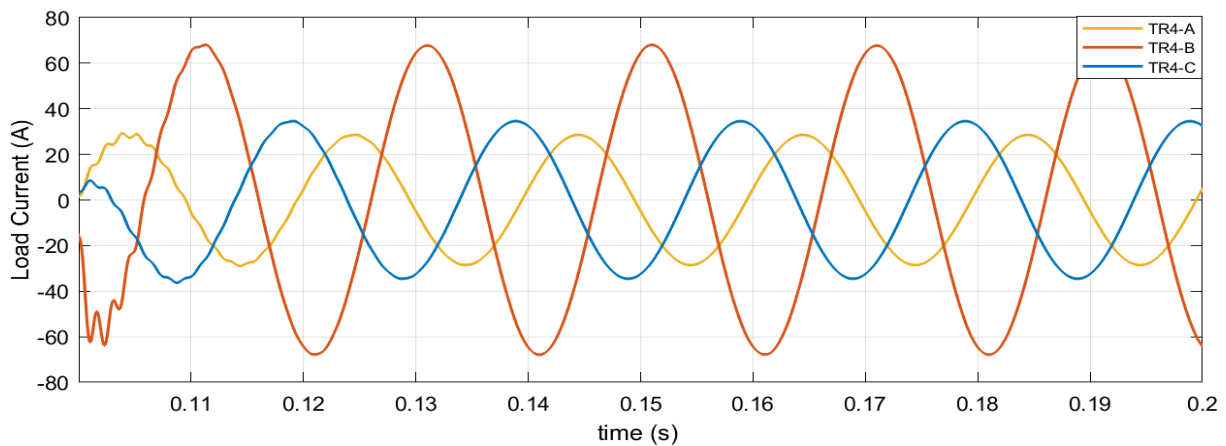


Figure 10. Fourth transformer current signals before TSCS was activated

Since the PCUR% value is above the specified limit, TSCS has determined that the phase that draws the most current from the transformer is phase B. According to this determination, switch B was energized and the power produced from the PV panels was injected into this phase and the I_{TR4-B} value decreased from 44.14 A to 31.4 A, the $I_{TR3-ave}$ value decreased from 29.80 A to 25.55 A and the PCUR% value decreased from 48.14% to 22.9%. The signals seen in the fourth transformer phase currents after TSCS is activated are seen in Figure 11.

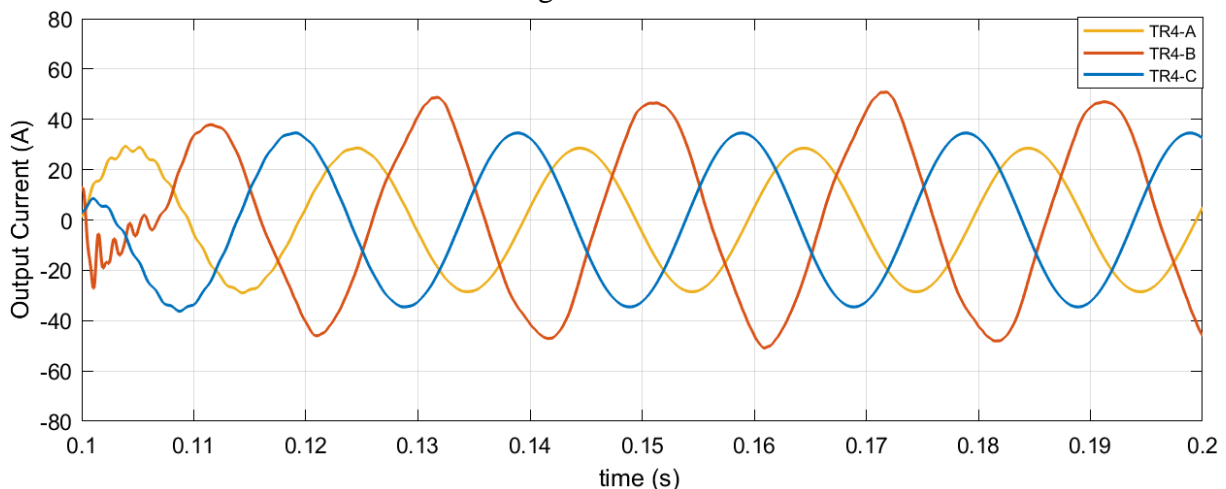


Figure 11. Fourth transformer current signals after TSCS was activated

The data obtained is compiled and Table 6 shows the improvement rates in PCUR% of transformers.

Table 6. Improvement in PCUR% values of transformers

| Transformer | Current Values (A) (Before) | Current Values (A) (After) | PCUR% (Before) | PCUR% (After) | Improvement in PCUR% |
|--------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------|------------------|-------------------------|
| First Transformer | $I_{TR1-A} = 65.67$ A | $I_{TR1-A} = 55.58$ A | 16.16% | 9.72% | 6.44% |
| | $I_{TR1-B} = 47.99$ A | $I_{TR1-B} = 47.99$ A | | | |
| | $I_{TR1-C} = 55.91$ A | $I_{TR1-C} = 55.91$ A | | | |
| Second Transformer | $I_{TR2-A} = 36.51$ A | $I_{TR2-A} = 36.51$ A | 22.17% | 10.53% | 11.64% |
| | $I_{TR2-B} = 54.16$ A | $I_{TR2-B} = 43.64$ A | | | |
| | $I_{TR2-C} = 42.26$ A | $I_{TR2-C} = 42.26$ A | | | |
| Third Transformer | $I_{TR3-A} = 18.33$ A | $I_{TR3-A} = 18.33$ A | 60.80% | 39.5% | 21.30% |
| | $I_{TR3-B} = 18.05$ A | $I_{TR3-B} = 18.05$ A | | | |
| | $I_{TR3-C} = 42.03$ A | $I_{TR3-C} = 31.62$ A | | | |
| Fourth Transformer | $I_{TR4-A} = 20.46$ A | $I_{TR4-A} = 20.46$ A | 48.14% | 22.9% | 25.24% |
| | $I_{TR4-B} = 44.14$ A | $I_{TR4-B} = 31.4$ A | | | |
| | $I_{TR4-C} = 24.79$ A | $I_{TR4-C} = 24.79$ A | | | |

CONCLUSION

In this article, a design that will improve the phase unbalance in the transformer with the help of SPP to be installed on the roof of the transformer center is proposed. In order to test the TSCS algorithm proposed in the design, simulation studies were carried out using data from four different transformers Erzurum, Ağrı and Erzincan provinces. According to the results obtained from the simulation studies, it was observed that there was a significant improvement in the PCUR% values of the transformers for all the above-mentioned cases with the application of the proposed method.

Thanks to the design, it will be possible to use the idle roofs of transformer buildings effectively and efficiently, provide cleaner energy input to the electricity distribution system, reduce carbon emissions and eliminate the negative effects of phase unbalance in transformers. Additionally, this design has the potential to be implemented in existing and new substations both in our country and around the world.

In future studies, it is aimed to design a system that will simultaneously transfer power to each phase in the distribution grids in proportion to the unbalance, by using the power obtained from PV panels placed on transformer roofs. With this system, it will be ensured that the distribution transformer output currents have equal amplitude for all phases. In this way, parallel to the balanced current draw from the transformer windings, heating of the transformer windings will be prevented and losses will be reduced.

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to thank the valuable managers of Aras Elektrik Dağıtım A.Ş. for their unwavering support in providing the real-time data set.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Ay, S. (1989). Elektrik Enerji Sistemlerindeki Dengesizliklerin Optimal İşletme Bakımından Etkinlikleri (Doctoral dissertation, İstanbul Technical University Institute of Science and Technology).
- Barutçu, İ. Ç., & Erduman, A. (2023). Review on Voltage Sag Studies For Distribution Grid Including Renewable Energy Sources. *Mugla Journal of Science and Technology*, 9(1), 16-23.
- Bollipo, R. B., Mikkili, S., & Bonthagorla, P. K. (2020). Hybrid, optimal, intelligent and classical PV MPPT techniques: A review. *CSEE Journal of Power and Energy Systems*, 7(1), 9-33.
- Cossoli, P., Cáceres, M., Vera, L., Firman, A., & Busso, A. (2018, September). Proportional-resonant controller and LCL filter design for single-phase grid-connected PV micro-inverters. In *2018 IEEE PES Transmission & Distribution Conference and Exhibition-Latin America (T&D-LA)* (pp. 1-5). IEEE.
- Cuong, N. X., & Do Nhu, Y. (2022, December). Effect of Voltage Unbalances on the Performance of a Three-phase Transformer. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1111, No. 1, p. 012050). IOP Publishing.
- Douglass, P. J., Trintis, I., & Munk-Nielsen, S. (2016, June). Voltage unbalance compensation with smart three-phase loads. In *2016 Power Systems Computation Conference (PSCC)* (pp. 1-7). IEEE.
- El-Hawary, M. E. (2008). Introduction to electrical power systems. John Wiley & Sons.
- Fidan, İ. (2020). LCL filtreli üç fazlı eviricinin tasarımı (Master's thesis, Düzce University Institute of Science and Technology). Access Address: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Ilyas, A., Ayyub, M., Khan, M. R., Jain, A., & Husain, M. A. (2018). Realisation of incremental conductance the MPPT algorithm for a solar photovoltaic system. *International Journal of Ambient Energy*, 39(8), 873-884.
- Jouanne, A., & Banerjee, B. (2001). Assessment of voltage unbalance. *IEEE transactions on power delivery*, 16(4), 782-790.
- Keskin, Y. E. (2014). Fotovoltaik sistemlerde maksimum güç noktası izleme yöntemlerinin karşılaştırılması (Master's thesis, Kocaeli University Institute of Science and Technology). Access Address: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Kongtrakul, N., Wangdee, W., Chantaraskul, S. (2023). Comprehensive review and a novel technique on voltage unbalance compensation. *IET Smart Grid*. 6(4), 331–358
- Markiewicz, H., & Klajn, A. (2004). Voltage disturbances standard en 50160-voltage characteristics in public distribution systems. *Wroclaw University of Technology*, 21, 215-224.
- Najafi, A. (2016). Dağıtım Transformatörlerindeki Dengesiz Gerilim Etkilerinin Sonlu Elemanlar Yöntemi Kullanılarak Değerlendirilmesi ve Termal Modellemesi, (Master's Thesis). Access Address: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Namboodiri, A., & Wani, H. S. (2014). Unipolar and bipolar PWM inverter. *International Journal for Innovative Research in Science & Technology*, 1(7), 237-243.
- Özan, A. (2020). Batarya enerji depolama sistemlerinin elektrik dağıtım sistemine etkisi ve sezgisel algoritmalar ile faz dengesizliğinin giderilmesi (Doctoral dissertation, İstanbul Technical University Institute of Science and Technology).
- Pillay, P., & Manyage, M. (2001). Definitions of voltage unbalance. *IEEE Power Engineering Review*, 21(5), 50-51.
- Rodriguez, A. D., Fuentes, F. M., & Matta, A. J. (2015, October). Comparative analysis between voltage unbalance definitions. In *2015 Workshop on Engineering Applications-International Congress on Engineering (WEA)* (pp. 1-7). IEEE.
- Sagiraju, D. K. V., Obulesu, Y. P., & Choppavarapu, S. B. (2017). Dynamic performance improvement of standalone battery integrated PMSG wind energy system using proportional resonant controller. *Engineering science and technology, an international journal*, 20(4), 1353-1365
- Strielkowski, W., Cívín, L., Tarkhanova, E., Tvaronavičienė, M., & Petrenko, Y. (2021). Renewable energy in the sustainable development of electrical power sector: A review. *Energies*, 14(24), 8240.
- Yilmaz, M., Tezgel, S., & Corapsiz, M. (2021). Graphical User Interface for Asynchronous Motors Clarke-Park Transforms Using LabVIEW. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(2), 317-325. <https://doi.org/10.35414/akufemubid.833337>.
- Yurdabak, M., & Şekkeli, M. (2014). Elektrik Dağıtım Şebekelerinde Scada/Dms Sistemlerinin İncelenmesi ve Uygulanması. *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal of Engineering Sciences*, 17(2), 26-31.

A Detailed Study of Solvent-Ligand Interactions and in Silico Biological Activity Predictions on Hydroxychloroquine

Mustafa Tuğfan BİLKAN

Highlights:

- Solvent effects on the structural properties of Hydroxychloroquine were investigated.
- Solvent-ligand complexes of HCQ have also been studied
- The drug-likeness, ADME, and toxicity parameters were examined in silico

Keywords:

- Solvent Effects
- In silico Predictions
- ADME-T
- Density Functional Theory

ABSTRACT:

In this study, the effects of solvent environment changes, which are of critical importance in drug production processes, on the geometric structure and physicochemical parameters of the Hydroxychloroquine (HQC) molecule were investigated. For this purpose, optimized molecule structures were obtained using Density Functional Theory in vacuum and solvent environments. Based on the optimized structures, the molecule's thermochemical properties, atomic charges, and chemical reactivity data were calculated in vacuum and solvent environments. Moreover, the molecule's molecular electrostatic potential map and HOMO-LUMO contour maps were drawn. Vibrational frequencies, intensities, and assignments in solvent environments were determined. The characteristics of the hydrogen bonding interactions established between solvent molecules and HQC were determined in detail. ADME, toxicity, and drug-likeness predictions of the molecule were made. The study results showed that while the structural, chemical, and physical properties of the HQC molecule were severely affected when transferred to the solvent environment, they were less affected by the changes between solvent environments. In addition, very strong h-bond interactions are established between the solvent molecules and HQC.

INTRODUCTION

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) started in late 2019 in Wuhan, China, one of the world's largest countries and trade centers. It has spread rapidly all over the world as a result of China's commercial and social interactions with other countries. According to WHO data on April 1, 2023, the virus caused more than 760 million people to be infected and nearly 7 million to die. (WHO Coronavirus Dashboard, 2023). Later, the disease, declared a pandemic by the WHO, showed severe effects, especially in people with weak immunity, chronic respiratory diseases, and older adults. The disease, which shows symptoms such as severe shortness of breath, high fever that cannot be reduced, and cough, can cause more severe health problems such as pneumonia, hypertension, gastrointestinal diseases, and coronary heart diseases in advanced stages (Hasgül et al., 2022; Acerce et al., 2022).

Recently, many pharmacological agents have been researched for treating the disease, and many drugs have been tried. One of the drugs used extensively for these studies is the Hydroxychloroquine (HCQ) molecule. HCQ is a critical antimalarial and antiviral agent on the WHO essential drugs list (WHO List of Essential Medicines, 2019). The other important medical uses of the drug include treating rheumatoid arthritis, lupus, and porphyria, also known as vampire disease (Hydroxychloroquine Sulfate Monograph for Professionals, 2020). A detailed literature review can reveal that many biological and chemical studies have been conducted on HCQ due to its acute pharmacological effects (Fox and Rheu, 1993; Ejuh et al., 2020; Nouredine et al., 2021; Altalhi et al., 2021; Parlak et al., 2022). When a search is done with the keyword "Hydroxychloroquine", it can be seen that between January 2020 and April 2023, there were 38700 results in Google Scholar and 5438 results in PubMed. This result shows that there is an increasing interest of scientists in HCQ. Much work has been done on the determination of the chemical and physical properties of the molecule using quantum chemical methods. In one of them, DFT and HF methods calculated chemical reactivity values and thermodynamic analyses of HCQ and CQ (Chloroquine) molecules (Omer et al., 2020). Another DFT study was carried out by Liu et al. in 2021 on determining vibrational modes and Fukui Indices of the molecules (Liu et al., 2021). In 2022, Chafai et al. calculated the chemical reactivity parameters and vibrational modes of HCQ and CQ molecules in the gas phase by DFT (Chafai et al., 2022). To the best of our knowledge, a detailed study of the effects of different solvent media on the structural, electronic, and spectroscopic parameters of HCQ has yet to be done. Solvent effects directly affect a drug's absorption, distribution, and transport in living tissues. In this respect, it is possible to increase the solubility and, thus, the drug's potency by using different solvents. Considering that most drugs used for therapeutic purposes have more or less undesirable side effects, it is vital to increase their effectiveness. Increased drug efficacy, which is generally directly proportional to its solvent effects, leads to lesser doses of medication, thus increasing the efficacy of the treatment and consequently reducing the side effects.

In this study, the effects of biologically and pharmacologically important solvent media such as ethanol ($EtOH$ - ϵ =24.85), dimethylsulfoxide ($DMSO$ - ϵ =46.83), and water (H_2O - ϵ =78.36) on the structural, spectroscopic, electronic and thermochemical parameters of the HCQ molecule were investigated in detail. In addition, the hydrogen bonding interactions between HCQ and the solvent molecules are also discussed. The molecule's toxicity, drug-likeness, and ADME (Absorption, distribution, metabolism, and excretion processes) parameters were also calculated in silico. The results obtained were discussed and aimed to increase the beneficial use of the molecule.

MATERIALS AND METHODS

Gaussian 09 program was used for all parameters calculated using DFT in vacuum and solvent environments (Frisch et al., 2009). The Gaussview package program was used for drawing 3D structures and visualizing calculation results (Dennington et al., 2008). The 3D structure of HCQ in the gas phase and solvent media was drawn, and optimized geometries were determined. The molecule's structural, spectroscopic, and electronic parameters were calculated using optimized structures with DFT/B3LYP and 6-311++G(d,p) basis set. The fundamental vibrational modes were characterized with the VEDA4 program, using potential energy distributions (PED) (Jamróz, 2004). The counterpoise method described by Boys and Bernardi was used to determine the content of hydrogen bonding interactions (Boys & Bernardi, 1970). The ionization potential (I) and electron affinity (A) of the molecule were calculated as the negatives of the HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) and LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) energies as stated in the Koopmans Theorem (Bilkan, 2019). Chemical potential ($\mu=(E_{HOMO}+E_{LUMO})/2$), chemical hardness ($\eta=(E_{LUMO}-E_{HOMO})/2$), and electrophilicity ($\omega=\mu^2/2\eta$) were obtained as defined by Parr et al. (Parr et al 1999). In the part of in silico biological activity calculations, the ADME and drug-likeness parameters were obtained using the PreADMET (PreADMET, 2022) website and toxicity parameters using the ProTox-II (ProTox-II, 2022) program. The interaction energies between solvent-ligand molecules were calculated using Formula 1 (Bilkan, 2017). In the formula, $E_{SOLVENT}$ is the energy of solvent molecules forming h-bonds with HCQ.

$$\Delta E_{INTERACTION}=E_{CLUSTER}-(E_{HCQ}+E_{SOLVENT}) \quad (1)$$

RESULTS AND DISCUSSION

The Optimized Structures and Thermochemical Parameters of HCQ in Solvent Media

Solvent media are very effective physical factors on the structure and all other properties of molecules. Solvents can change a molecule's geometric structure, charge distributions, thermochemical properties, and vibrational modes. These changing parameters are the determining factors in pharmacokinetic processes. Since the use of molecules as drugs is determined by the strength and quality of the chemical bonds they form with the active sites of proteins, the changing structural properties should also be examined in drug synthesis and production processes.

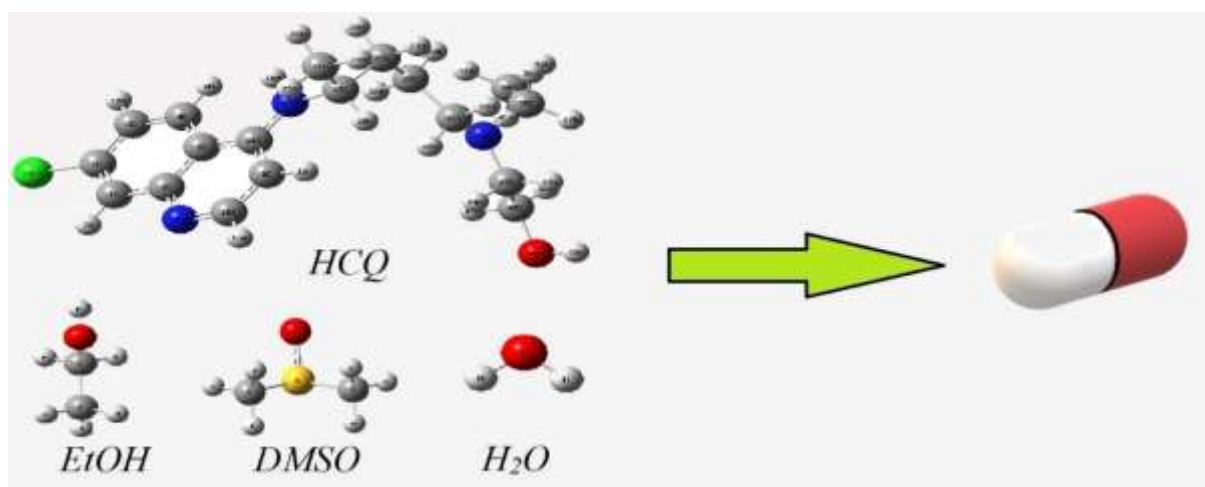


Figure 1. The Optimized Molecular Structures of HCQ, EtOH, DMSO, and Water

The fact that the human body is made up of around sixty-seventy percent of water makes it necessary to determine the extent to which molecular structures are affected by the aquatic

environment and the nature of the interactions between the drug and the water molecules. The optimized molecular structures of HCQ and the solvents are shown in Figure 1.

The total energies and thermochemical parameters of HCQ calculated in vacuum and solvent environments using optimized structures are shown in Table 1.

The increase in the dipole moment value is related to increased binding properties and can also increase a molecule's biological activity (Lien et al., 1982). Table 1 also shows that the thermochemical parameters of HCQ changed drastically from vacuum to solvent environments, but no significant differences were observed between solvent media.

Table 1. The Calculated Energies and Thermochemical Properties of HCQ in Solvent Media

| | Vacuum | EtOH | DMSO | H ₂ O |
|---|-----------|-----------|-----------|------------------|
| ϵ (Dielectric constant) | 1.00 | 24.85 | 46.83 | 78.36 |
| Total Energy (Hartree) | -1401.528 | -1401.545 | -1401.546 | -1401.546 |
| Total Energy (Kcal/mol) | -879472.4 | -879483.0 | -879483.6 | -879483.7 |
| Energy Difference (Kcal/mol) | 0.0 | 10.6 | 11.2 | 11.3 |
| Zero-point vibr. Energy (Kcal/mol) | 262.09 | 262.12 | 262.14 | 262.15 |
| * $E_0 = E_{tot} + ZPVE$ (Hartree) | -1401.111 | -1401.128 | -1401.128 | -1401.129 |
| ** $E_{298} = E_{el} + E_{vib} + E_{rot} + E_{trans}$ (H) | -1401.086 | -1401.104 | -1401.104 | -1401.105 |
| *** $H_{298} = E_{298} + RT$ (Hartree) | -1401.085 | -1401.103 | -1401.103 | -1401.104 |
| **** $G_{298} = H_{298} - TS$ (Hartree) | -1401.168 | -1401.185 | -1401.185 | -1401.185 |
| Entropy (cal/mol.K) | 174.587 | 172.632 | 172.212 | 172.016 |
| Heat capacity (cal/mol.K) | 90.727 | 90.698 | 90.684 | 90.675 |
| Dipole Moment (Debye) | 7.99 | 11.31 | 11.46 | 11.52 |

* E_0 : Sum of electronic and zero-point vibrational energy

** E_{298} : Sum of electronic and thermal energies

*** H_{298} : Sum of electronic and thermal enthalpies

**** G_{298} : Sum of electronic and thermal free energies

For example, Table 1 shows the difference between the total energies in vacuum and solvent environments is 10.6 kcal/mol in EtOH, 11.2 kcal/mol in DMSO, and 11.3 kcal/mol in water media. There is no statistically significant difference between them. Similarly, dipole moments of HCQ in vacuum and the solvent media were calculated as 7.99 D, 11.31 D, 11.46 D, and 11.52 D, respectively. This may indicate that solvents other than water can also be used in biological studies and pharmacological research related to HCQ.

Atomic charges, molecular electrostatic maps, molecular contour maps and relations of these with h-bond ability of hcq in solvent media

The individual atomic charges of the atoms that make up a molecule are among the factors that determine all the physical, chemical and even biological properties of the molecule. Interatomic interactions and chemical bonds are formed as a result of the charge exchange between atoms or the attraction effects of atoms with each other. Therefore, determining the charge of each atom that makes up the molecule is among the important topics of computational quantum chemistry. Charges for each atom in the molecule can be calculated by Mulliken or Natural Bond Analysis (NBO) methods (Gangadharan & Krishnan, 2014). Although the results obtained by both methods provide very useful information, it is known that NBO-calculated atomic charges are more reliable than Mulliken charges (Yurdakul & Bilkan, 2015). In addition, NBO charge calculations are a very effective method for determining intermolecular interactions and provide useful information in studying charge transfers between molecular systems.

The NBO-calculated atomic charges of HCQ in vacuum medium are given in Figure 2. As can be seen from the figure, all nitrogen atoms and most carbon atoms have a negative charge. Such a

negative charge in atoms is very important for bioactivity because these negatively charged atoms form strong and weak bonds of bioactive molecules with proteins and other macromolecules. Although all hydrogen atoms in the molecule are positive as expected, the hydrogen atom bonded to the oxygen atom and those close to the chlorine atom have a higher positive charge density than the others. This directly affects the nature of hydrogen-bonded interactions that HCQ will form with solvent molecules. This result also indicates that these atoms are electron donors and charge transfer from H to C and from H to O. These partial charge distributions on the molecular structure show that electrostatic interactions between atoms can contribute significantly to intramolecular and intermolecular interactions.

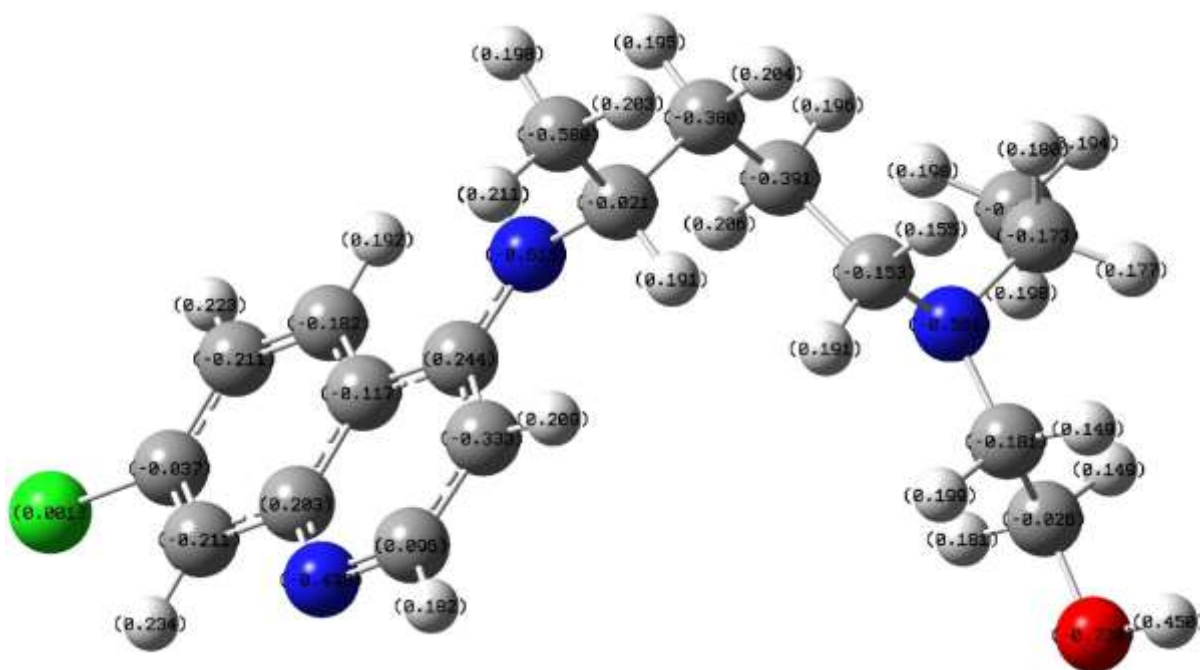


Figure 2. The NBO-Calculated Atomic Charges (in e) of HCQ in Vacuum

Figure 3 shows the molecular electrostatic potential map (MEP) of HCQ. MEP is directly related to the electron densities of atoms in a molecule. Therefore, it is an important parameter frequently used in determining the characteristics of hydrogen bonding interactions (Dege et al., 2022). Figure 3 shows the red, yellow, green, and blue regions on the map. The red-colored regions where the oxygen and nitrogen atoms are located are the ends of the molecule with the most negative potential. The strongest intermolecular interactions occur in these parts of the molecule. The blue-colored regions where the hydrogen atoms are located are the regions with the most positive potential. The green and yellow tones represent neutral or near-neutral charge densities.

From the MEP map, it is predicted that the oxygen and nitrogen ends of the HCQ are the regions that can establish the strongest hydrogen bonding interactions with solvent molecules. Taking advantage of this, the character of solvent-ligand interactions can be determined with higher accuracy and shorter computational times.

The HOMO and LUMO contour maps of HCQ are given in Figure 4. HOMO and LUMO energies are important parameters used to describe and calculate many important properties of molecular structures. Using HOMO and LUMO values, global reactivity descriptors such as polarity,

hardness, softness, basicity, acidity, excitability and structural indicators such as charge transfer and electronic transitions can be easily determined (Dege et al., 2022).

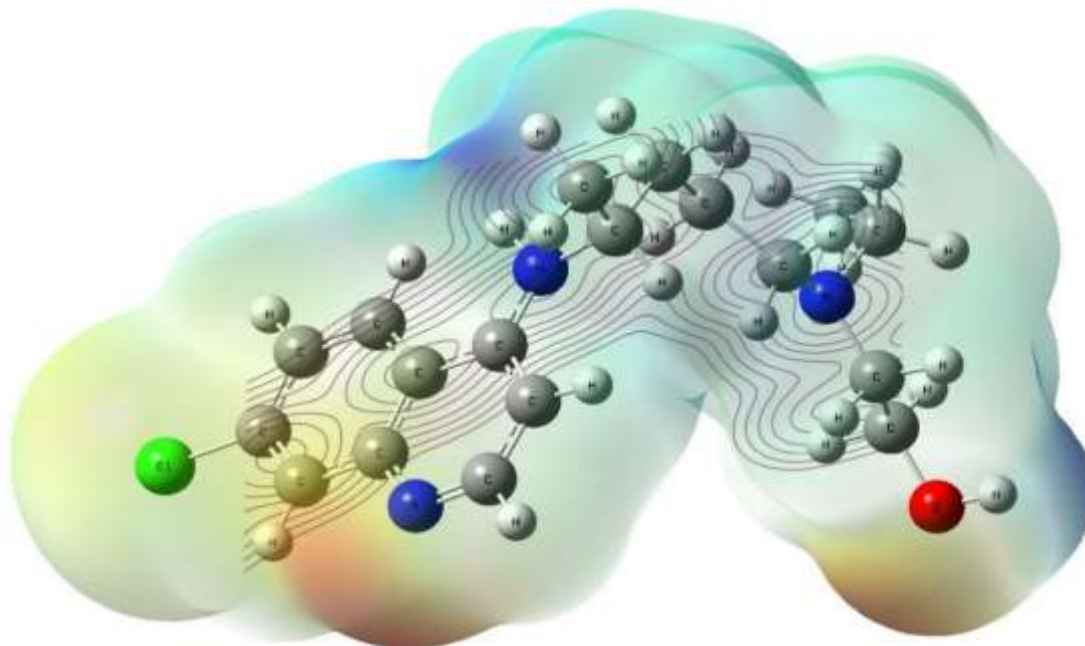


Figure 3. The Molecular Electrostatic Potential Map of HCQ

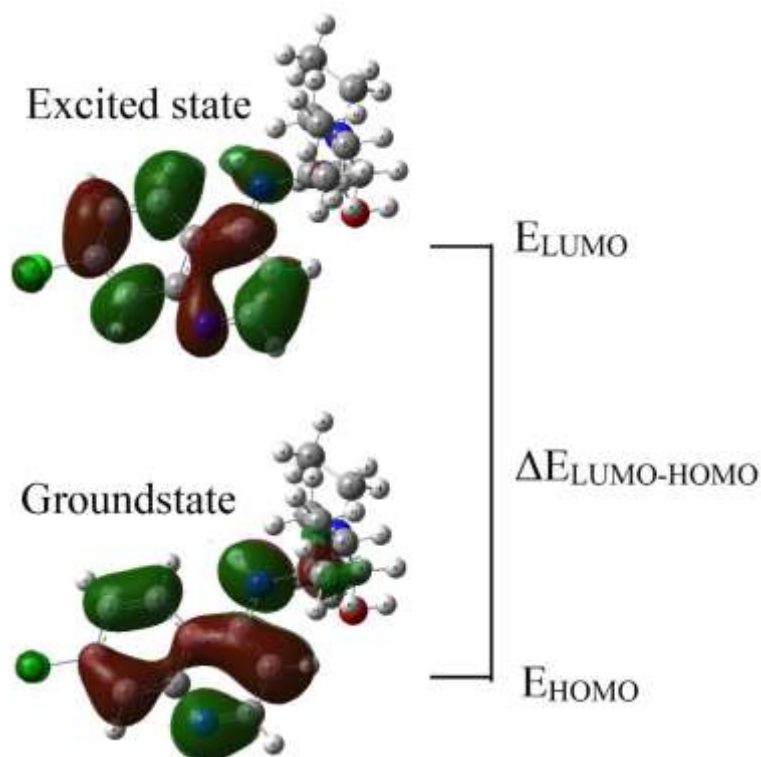


Figure 4. The HOMO-LUMO Contour Maps of HCQ

HOMO-LUMO and global reactivity values of HCQ calculated (Pearson, 1986; Üstün et al, 2016; Üstün, & Mehel, 2018) in vacuum and solvent environments are given in Table 2.

It can be seen from the table that the HOMO and LUMO energies calculated in the vacuum environment are -1.593 eV and -5.999 eV, respectively. The HOMO-LUMO energy gap, which is one

of the important indicators of molecular stability, was calculated as 4.406 eV. The table also shows the HOMO-LUMO energies calculated in solvent environments and the gap values between them.

Table 2. DFT Calculated the Chemical Reactivity Data of HCQ in Vacuum and Solvent Media

| Parameters | Vacuum | EtOH | DMSO | Water |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| E_{LUMO} | -1.593 | -1.676 | -1.682 | -1.685 |
| E_{HOMO} | -5.999 | -5.982 | -5.985 | -5.986 |
| $\Delta E_{LUMO-HOMO}$ | 4.406 | 4.306 | 4.302 | 4.301 |
| Electron affinity (A) | 1.593 | 1.676 | 1.682 | 1.685 |
| Ionization potential (I) | 5.999 | 5.982 | 5.985 | 5.986 |
| Global hardness (η) | 2.203 | 2.153 | 2.151 | 2.150 |
| Chemical potential (μ) | -3.796 | -3.829 | -3.833 | -3.836 |
| Electrophilicity (ω) | 3.271 | 3.405 | 3.416 | 3.421 |

It is seen that the HOMO-LUMO energy gap decreases with increasing solvent polarity, and thus the molecular stability of HCQ increases. The table also shows that the electrophilicity value of the molecule increases in solvent environments. Electron affinity, another important calculated global reactivity descriptor, also increased in solvent environments. This is especially important in terms of the pharmacological use of HCQ.

Vibrational assignments

Vibrational spectroscopy can give very useful information in providing information about the presence of functional groups. For example, the presence of the same IR spectra for two samples whose structures or contents are unknown may indicate that these samples have similar or even the same compound structure. However, it does not provide information on the detailed structure of the molecular formula or structure. It mostly provides information about functional groups. Therefore, it is a limited technique used in conjunction with other analysis methods.

Atoms in a molecule make harmonic vibrational motions around their starting point. There are $3N-6$ vibrational modes for a nonlinear molecule (Bilkan, 2017). Each of these modes creates absorption bands in a characteristic region. Considering this feature, examining molecular structures using vibration spectroscopy is a frequently used practical method. It is possible to obtain valuable information with vibrational spectroscopy, especially in investigating the effects of solvent environments on molecular structures.

Since the HCQ molecule consists of 49 atoms, it has $(3 \times 49) - 6 = 141$ vibrational modes. A comparison of some important vibration modes of HCQ calculated in solvent environments with experimental ones is given in Table 3.

When Table 3 is examined, it can be seen that solvent environments seriously affect the vibrational modes of HCQ. There are many red shifts and blue shifts in vibrational frequencies. The frequency of vibration (actually wavenumber) between the oxygen and the hydrogen atom to which it is attached was calculated at 3822 cm^{-1} for a single HCQ in the vacuum environment, while it shifted to 3810 cm^{-1} in the solvent environments. There was also an increase in the relative intensity of the vibrational mode. The most intensity vibrational mode 1600 cm^{-1} , where C-C-C bending, N-C, and C-C stretching vibrations are seen for HCQ, shifted 1594 cm^{-1} with the effect of solvent medium. The table shows frequency shifts and intensity changes that occurred in other vibrational modes. This indicates that solvent environments seriously affect the structural and, thus, pharmacological properties of HCQ. Therefore, the effects of solvent media should be considered in detail in drug design studies related to HCQ.

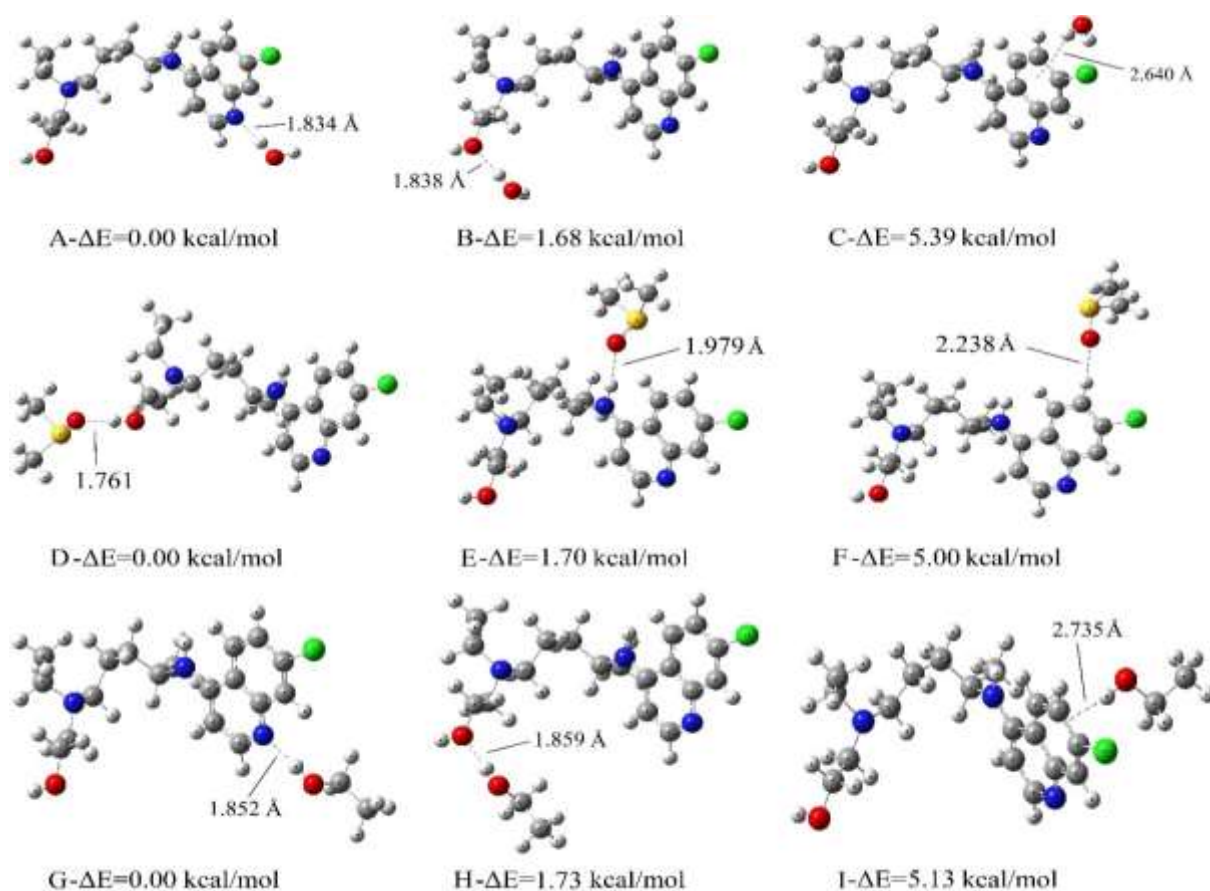
Table 3. The Selected Vibrational Modes and Assignments of HCQ in Vacuum and Solvent Environments

| Mode | DFT/B3LYP | | | | | | | | PED (%)* |
|------|-----------|-----------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|-----------------|--|
| | Vacuum | | EtOH | | DMSO | | Water | | |
| | Freq. | I _{IR} | Freq. | I _{IR} | Freq. | I _{IR} | Freq. | I _{IR} | |
| 22 | 285 | 20.98 | 282 | 13.39 | 282 | 13.71 | 282 | 14.18 | $\Gamma_{\text{HOCC}}(40)$ |
| 28 | 399 | 11.25 | 399 | 11.23 | 401 | 12.16 | 402 | 12.57 | $\delta_{\text{CCN}}(23)+\Gamma_{\text{HNCC}}(14)$ |
| 47 | 810 | 9.50 | 815 | 9.21 | 815 | 9.51 | 815 | 9.67 | $\Gamma_{\text{HCCN}}(30)+\Gamma_{\text{HCCC}}(27)+\Gamma_{\text{CNCC}}(12)$ |
| 52 | 868 | 11.51 | 866 | 1.21 | 867 | 1.09 | 867 | 1.04 | $\delta_{\text{CCN}}(16)$ |
| 54 | 906 | 12.14 | 901 | 10.86 | 901 | 10.77 | 901 | 10.73 | $\delta_{\text{CCC}}(24)$ |
| 94 | 1402 | 18.41 | 1401 | 9.85 | 1401 | 4.96 | 1401 | 3.39 | $V_{\text{NC}}(26)+\delta_{\text{HCN}}(15)+V_{\text{CC}}(13)$ |
| 113 | 1600 | 100.00 | 1594 | 100.00 | 1594 | 100.00 | 1593 | 100.00 | $\delta_{\text{CCC}}(15)+V_{\text{NC}}(15)+V_{\text{CC}}(12)$ |
| 117 | 2877 | 33.23 | 2894 | 37.54 | 2895 | 37.61 | 2896 | 37.61 | $V_{\text{CH}}(98)$ |
| 139 | 3207 | 0.13 | 3209 | 2.09 | 3209 | 2.04 | 3210 | 2.02 | $V_{\text{CH}}(99)$ |
| 140 | 3623 | 4.04 | 3621 | 7.76 | 3621 | 7.89 | 3620 | 7.94 | $V_{\text{NH}}(100)$ |
| 141 | 3822 | 6.67 | 3810 | 6.94 | 3810 | 7.04 | 3810 | 7.09 | $V_{\text{OH}}(100)$ |

V: stretching, δ : bending, Γ :torsional

Solvent-ligand Complexes

Hydrogen-bonded (h-bond) complexes are one of the intriguing phenomena in computational quantum chemistry. Its importance is related to the direct effects of such binding on biological activity and bioavailability.

**Figure 5.** The Optimized Molecular Structures, Relative Energy Differences and H-Bond Lengths For Three Versions of HCQ and EtOH, DMSO, and Water Complexes

Drug-drug interactions, drug-solvent interactions, and even drug-protein interactions mostly occur due to hydrogen bonding mechanisms. H-bond formation is so crucial that it is first-degree effective in the emergence and continuity of life. H-bond effects are also seen in the formation of the structure of water, which gives life to almost all living things, the double-helix structure of the DNA macromolecule, and protein folding (Ghiandoni & Caldeweyher 2023). Here, the h-bonded solvent-ligand complexes of HCQ were investigated in terms of energies, h-bond length, and bond strength. Thus, the nature of the interactions between HCQ with water and other solvents was determined.

Optimized molecular structures of HCQ-H₂O, HCQ-EtOH, and HCQ-DMSO complexes are given in Figure 5, together with the binding distances and relative energy differences.

As can be seen from the Figure, HCQ contains a large number of h-bond donors, but only two h-bond accepters. In addition, h- π interaction occurs between the donors of the solvent molecules and the aromatic ring in the structure of HCQ. The hydrogen bond lengths formed as a result of the interactions vary between 1.731 and 2.735 Å. Among the hydrogen-bonded complexes formed, the most stable ones are indicated by A, D and G. The interaction energies for the HCQ-solvent complexes were calculated and given in Table 4.

Table 4. The Interaction Energies of HCQ-Solvent Complexes

| Solvent media | Complex | Interaction Type | Interaction energy (kcal/mol) | H-bond lengths (Å) | Energy difference (kcal/mol)* |
|---------------|---------|------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|
| Water | A | O-H...N | -2.33 | 1.834 | 0.00 |
| | B | O-H...O | -1.78 | 1.838 | 1.68 |
| | C | O-H... π | -0.65 | 2.640 | 5.39 |
| | D | O-H...O | -5.36 | 1.761 | 0.00 |
| DMSO | E | N-H...O | -3.65 | 1.979 | 1.70 |
| | F | C-H...N | -0.36 | 2.238 | 5.00 |
| | G | O-H...N | -3.03 | 1.852 | 0.00 |
| EtOH | H | O-H...O | -1.29 | 1.859 | 1.73 |
| | I | O-H... π | -0.88 | 2.735 | 5.13 |

*Energy differences were calculated as A-A, A-B, and A-C for water complexes and others similarly

The intermolecular interaction energy is one of the most important indicators of the strength of non-covalent bonding. In stable complex structures, interaction energies (ΔE) are mostly negative, and the more negative this value is, the stronger the hydrogen bond will be (Zheng et al., 2016). As can be seen from the table, O-H...N and O-H...O type bonds are the bonding types with the strongest interaction energies. However, O-H... π type interactions are the weakest versions of hydrogen bonding. This means N and O atoms of HCQ will be donors in hydrogen bonding with solvent molecules. When a detailed literature study is conducted, it is seen that the interaction energy for HCQ-protein bindings is 5-10 kcal/mol in docking studies where the interactions of HCQ with various proteins are examined (Korkmaz et al., 2018; Amin & Abbas, 2021; Singh et al., 2021). This shows that the drug taken into the solvent media (or, for example, the human body) can easily interact with the proteins and make bindings from the active sites after being dissolved in the solvent environments examined in this study.

ADME, drug-likeness and toxicity parameters of HCQ

In medical and biological applications, there are some important parameters in applying a molecule with therapeutic effects to the patient as a drug. These parameters are absorption, distribution, metabolism, and excretion (ADME) processes, and the optimal benefit of the drug to the patient is directly related to these factors. In this respect, obtaining ADME data in pharmacokinetic processes can provide useful information at the preclinical stage of drug development because in silico

ADME calculations can show the potential of a molecule to be used as a drug (Butina et al., 2002; Cetin et al., 2023; Sevincli et al., 2023). Moreover, since a drug's absorption, distribution, metabolism, and excretion processes occur in solvent environments, ADME parameters and solvent effects are directly related. Due to its stated importance, in silico ADME predictions have serious importance (Cetin et al., 2023). The ADME parameters of the HCQ molecule were calculated in this study and given in Table 5.

Table 5. Some Important in Silico ADME Parameters of HCQ

| ID | Value |
|------------------------------|--------|
| BBB | 2.29 |
| Caco2 | 46.08 |
| HIA | 94.66 |
| MDCK | 45.11 |
| Plasma Protein Binding | 89.00 |
| Pure water solubility (mg/L) | 224.79 |

The table shows that the Blood-brain barrier penetration (BBB) value is 2.29. Molecules with a BBB value greater than 2.00 have high absorption (CN-active) in the central nervous system (Ma et al., 2005), indicating that HCQ can penetrate the BBB very well. The Caco2 (Lea, 2015) value is another important parameter, an immortalized cell line of human colorectal adenocarcinoma cells. This Cell line is used as a model of the intestinal epithelial barrier. Madin-Darby canine kidney (MDCK) cell isolated from canine distal kidney tissue has been used as a faster and more cost-effective alternative to Caco-2 cells. The Caco2 permeability value of HCQ was calculated as 46.08, and MDCK was calculated as 45.11. The HIA is a human intestinal absorption feature and indicates the absorption process of orally administered drugs from the gastrointestinal tract into the circulation. The calculated value of HIA is 94.66. All calculated parameters state that HCQ has a good oral absorption ratio in the human body.

Lipinski defines simple but very useful rules (Christopher, 2004) depending on the structural features to predict the use of a molecule as a drug. While these rules define the drug-likeness of the molecule, they are based on previous research, scientific studies, and reports. According to Lipinski, for a molecule to be easily absorbed, the H-bond donor number should be less than 5, the molecular weight should be less than 500, the logP should be less than 5, H-bond acceptor should be less than 10. In this respect, HCQ meets almost all requirements specified by Lipinski except for the number of H-bond donors.

It is important to detect the toxic effects of a drug or any substance to be taken into the body. Toxicity should not only be considered an effect on the whole body; it can also directly affect any organ or cell. Toxicity has some important features that differ from many other scientific concepts. First, toxicity is dose-dependent. There may be doses in which even substances with a very toxic effect are harmless. The second is species-specific. In other words, a substance with high toxicity may harm some living species while not causing others. Therefore, animal experiments are only sometimes possible in terms of toxicity. In this case, making toxicity estimations based on molecular structures can give useful and scientifically beneficial results. The predicted toxicity parameters of HCQ are given in Table 6.

It can be seen from the table that the LD₅₀ value of HCQ is estimated at 1240 mg/kg. LD₅₀ means *Median Lethal Dose*, which is frequently used in toxicity definitions (Anonymous, 2019). The

LD₅₀ value of a toxic substance is the dose required to kill half of the population in a toxicity test, and the lower the LD₅₀ value, the higher the toxicity of the substance (Anonymous, 2021).

Table 6. Some Important in Silico ADME Parameters of HCQ

| ID | Value | Prediction |
|------------------------------------|-------|----------------------|
| Predicted LD ₅₀ (mg/kg) | 1240 | - |
| Predicted Toxicity Class | 4 | harmful if swallowed |
| Hepatotoxicity | 0.94 | Inactive |
| Immunotoxicity | 0.99 | Active |
| Cytotoxicity | 0.72 | Inactive |
| Carcinogenicity | 0.62 | Inactive |
| Mutagenicity | 0.79 | Active |

To make a comparison, the toxicity value for paracetamol, which is one of the most frequently used drugs in infants, children, adults, and elderly patients due to its antipyretic and analgesic effects, was calculated as 338 mg/kg. The experimental toxicity dose determined for paracetamol has been reported as approximately 150-200 mg/kg and above (Janssen & Saluja, 2015; Yoon et al., 2016). In addition, the toxicity class of both drugs is predicted to be 4 on the web server. However, it can be seen from the Table that HCQ is active in terms of immunotoxicity and mutagenic toxicity. In this case, it is recommended to consider these effects in the determination of the dosage of the drug and to apply treatments that will eliminate the negative effects on the immune system. All these results may show that the use of appropriate doses of HCQ in drug therapy will not cause toxic effects.

CONCLUSION

In this study, a detailed review of the effects of solvent media on HCQ was made. The situations of the molecule's physicochemical and pharmacological properties in EtOH, DMSO, and water environments were examined, and possible hydrogen-bonded compounds formed with solvent molecules were studied. In addition, drug-likeness, ADME, and toxicity estimates were made in silicon. The study results showed that the thermochemical parameters and dipole moment changed drastically when changing from vacuum to solvent environment, but there were no significant differences between solvent environments. The most negative parts of the molecule are oxygen and nitrogen atoms, while chlorine is almost neutral. Also, although all hydrogen atoms are positive, all but the one attached to the oxygen atom has a low charge density. Accordingly, HCQ has the potential to form hydrogen bonds with solvent molecules of oxygen, hydrogen, and all nitrogen atoms. In the MEP map, electron-excess regions are depicted in red and electron-deficient regions in blue. Thus, the nucleophilic and electrophilic properties of HCQ were interpreted, and versions with intermolecular interactions were determined. One of the important indicators of molecular stability, the HOMO-LUMO energy gap, is calculated as 4.406 eV in this study. In solvent environments, this gap is significantly reduced; that is, molecular stability is increased. In addition, while the electron affinity of the molecule increased in solvent environments, the global hardness decreased. Since the vibrational modes are directly related to the geometric structure, the frequencies and intensities also changed significantly due to the changing solvent environment. Some modes are red-shifted, while others are blue-shifted. The vibrations of atoms outside the ring are more severely affected by the solvent environment, while the vibrational modes within the ring are more limitedly affected. The h-bond length, interaction type, and interaction energies were also calculated for three solvent-ligand complexes formed with EtOH, DMSO, and water molecules. The highest interaction energies for EtOH and water compounds were calculated for O-H...N type bonds, and the h-bond lengths were

calculated as approximately 1.85 Å. For the DMSO complex, the h-bond length was calculated as 1.761 Å and the interaction energy as -5.36 eV. Finally, ADME, drug-likeness, and toxicity parameters of HCQ were also investigated in silico methods. Toxicity and ADME parameters were determined, and thus, preliminary basic information was established for future physical, chemical, biological, and pharmacological studies on HCQ.

REFERENCES

- Acerce, H. C., Hasgül, B., Karaman, S. (2022). COVID-19 Hastalığı ve Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu Tanısı Alan Hastaların Hemogram Parametrelerinin Kıyaslanması. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 156
- Altalhi, T.A., Alswat, K., Alsanie, W. F., Ibrahim, M. M., Aldalbahi, A. A., El-Sheshtawy H. S., (2021). Chloroquine and hydroxychloroquine inhibitors for COVID-19 sialic acid cellular receptor: Structure, Hirshfeld atomic charge analysis and solvent effect. *Journal of Molecular Structure*, 1228, 129459.
- Amin, M., Abbas, G. (2021). Docking study of chloroquine and hydroxychloroquine interaction with RNA binding domain of nucleocapsid phospho-protein – an in silico insight into the comparative efficacy of repurposing antiviral drugs. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39, 4243.
- Anonymous (2019). "Absolute lethal dose (LD100)". IUPAC Gold Book. International Union of Pure and Applied Chemistry. Archived from the original on 2019-07-01. Retrieved.
- Anonymous (2021) "What is a LD50 and LC50?". OSH Answers Fact Sheets. Canadian Centre for Occupational Health and Safety.
- Bilkan, M. T. (2017). Structural and spectroscopic studies on dimerization and solvent-ligand complexes of Theobromine. *Journal of Molecular Liquids*, 238, 523.
- Bilkan, M.T. (2019). Quantum chemical studies on solvent effects, ligand–water complexes and dimer structure of 2, 2'-dipyridylamine. *Physics and Chemistry of Liquids*, 57, 100.
- Boys, S.F., Bernardi, F. (1970). The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Molecular Physics*, 19, 553.
- Butina, D., Segall, M. D., Frankcombe, K. (2002). Predicting ADME properties in silico: methods and models. *Drug Discovery Today*, 7, 83.
- Cetin, A., Donmez, A., Dalar, A., & Bildirici, I. (2023). Amino acid and Dicyclohexylurea Linked Pyrazole Analogues: Synthesis, In Silico and In Vitro Studies. *ChemistrySelect*, 8(6), e202204926.
- Cetin, A., Donmez, A., Dalar, A., & Bildirici, I. (2023). Tetra-substituted pyrazole analogues: synthesis, molecular docking, ADMET prediction, antioxidant and pancreatic lipase inhibitory activities. *Medicinal Chemistry Research*, 32(1), 189-204.
- Chafai, N., Benbouguerra, K., Chafaa, S., Hellal, A. (2022). Quantum Chemical Study of Hydroxychloroquine and Chloroquine Drugs Used as a Treatment of COVID-19. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 41, 27.
- Christopher, A. L. (2004). Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today Technologies* 1, 337.

- Dege, N., Gökçe, H., Doğan, O. E., Alpaslan, G., Açar, T., Muthu, S., Sert, Y. (2022). Quantum computational, spectroscopic investigations on N-(2-((2-chloro-4,5-dicyanophenyl)amino)ethyl)-4-methylbenzenesulfonamide by DFT/TD-DFT with different solvents, molecular docking and drug-likeness researches. *Colloids and Surfaces A*, 638, 128311.
- Dennington, R.D., Keith, T.A., Millam, J.M. (2008). *GaussView 5*, Gaussian, Inc.
- Ejuh, G.W., Fonkem, C., Tadjouteu Assatse, Y., Yossa Kamsi, R.A., Tchangnwa Nya, Ndukum, L.P., Ndjaka, J.M.B., (2020), Study of the structural, chemical descriptors and optoelectronic properties of the drugs Hydroxychloroquine and Azithromycin. *Heliyon*, 6, e04647.
- Fox, R. I. (1993) Mechanism of action of hydroxychloroquine as an antirheumatic drug. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 23, 82.
- Frisch, M. J. et al., (2009). *Gaussian 09*, Revision B.01, Gaussian Inc., C.T. Wallingford.
- Hasgül, B., Karaman, S., Çatak, A. İ. (2022). COVID-19 Hastalığı Sonrası Aşılınmamış Hastalarda Demografik Özellikler, Antikor Seviyeleri ve Akciğer Tutulumlarının Değerlendirilmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1, 1.
- Gangadharan, R. P., Krishnan, S. S. (2014). Natural Bond Orbital (NBO) population analysis of 1-azanaphthalene-8-ol. *Acta Physica Polonica A*, 125.1, 18.
- Ghiandoni, G. M., Caldeweyher, E. (2023). Fast calculation of hydrogen-bond strengths and free energy of hydration of small molecules. *Scientific Reports*, 13, 1.
- "Hydroxychloroquine Sulfate Monograph for Professionals". (20 March 2020), The American Society of Health-System Pharmacists.
- Jamróz, M.H. (2004). *Vibrational Energy Distribution Analysis. VEDA 4*, Warsaw.
- Janssen, J., Saluja, S. S. (2015). How much did you take? Reviewing acetaminophen toxicity. *Canadian Family Physician*. 61, 347.
- Kawsar, S.M.A., Hosen, M.A., Fujii, Y., Ozeki, Y. (2020). Thermochemical, DFT, Molecular Docking and Pharmacokinetic Studies of Methyl β -D-galactopyranoside Esters. *Journal of Computational Chemistry*, 4, 452.
- Korkmaz, A., Cetin, A., Kaya, E., Erdoğan, E. (2018). Novel polySchiff base containing naphthyl: synthesis, characterization, optical properties and surface morphology. *Journal of Polymer Research*, 25, 1-8.
- Lea, T. (2015). *Caco-2 Cell Line, The Impact of Food Bioactives on Health in Vitro and Ex Vivo Models*. Springer, Cham, Chapter 10.
- Lien, E. J., Guo, Z., Li, R. L., Su, C. T. (1982). Use of dipole moment as a parameter in drug-receptor interaction and quantitative structure-activity relationship studies. *Journal of Pharmacological Sciences*, 71, 641.
- Liu, X. Y., Xu, Y. N., Wang, H. C., Cao, J. W., Qin, X. L., Zhang, P. (2021). First-principles DFT investigations of the vibrational spectra of chloro-quine and hydroxychloroquine. *Journal of Physics Communications*, 5 105009.
- Ma, X.L., Chen, C., Yang, J. (2005). Predictive model of blood-brain barrier penetration of organic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26, 500.
- Noureddine, O., Issaoui, N., Medimagh, M., Al-Dossary, O., Marouani, H. (2021). Quantum chemical studies on molecular structure, AIM, ELF, RDG and antiviral activities of hybrid hydroxychloroquine in the treatment of COVID-19: Molecular docking and DFT calculations. *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, 33, 101334.

- Omer, R. A., Ahmed, L. O., Koparir, M., Koparir, P. (2020). Theoretical analysis of the reactivity of chloroquine and hydroxychloroquine. *Indian Journal of Chemistry*, 59A, 1828.
- Parlak, C., Alver, Ö., Ouma, C.N.M., Rhyman, L., Ramasami, P. (2022). Interaction between favipiravir and hydroxychloroquine and their combined drug assessment: in silico investigations. *Chemicke Zvesti*, 76, 1471.
- Parr, R.G., Szentpály, L.V., Liu, S. (1999). Computational Analysis of Theacrine, a Purported Nootropic and Energy-Enhancing Nutritional Supplement. *Journal of American Chemical Society*, 121, 1922.
- Pearson, R. G. (1986). Absolute electronegativity and hardness correlated with molecular orbital theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(22), 8440-8441.
- PreADMET, (2022).
- ProTox-II- Prediction of Toxicity of Chemicals, (2022).
- Seyma Sevincli, Z., Bildirici, N., Cetin, A., & Bildirici, I. (2023). GABA–AT Inhibitors: Design, Synthesis, Pharmacological Characterization, Molecular Docking and ADMET Studies. *ChemistrySelect*, 8(35), e202302683.
- Singh, J., Malik, D., Raina, A. (2021). Molecular docking analysis of azithromycin and hydroxychloroquine with spike surface glycoprotein of SARS-CoV-2. *Bioinformation*. 17, 11.
- Üstün, E., Demir, S., Coşkun, F., Kaloğlu, M., Şahin, O., Büyükgüngör, O., & Özdemir, İ. (2016). A theoretical insight for solvent effect on myoglobin assay of W (CO) 4L2 type novel complexes with DFT/TDDFT. *Journal of Molecular Structure*, 1123, 433-440.
- Üstün, E., & Mehel, A. K. (2018). Solvent Effects on Frontier Orbitals and Electronic Transitions of Manganese Carbonyl Complexes: A DFT/TDDFT Study. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 509-514.
- WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard//<https://covid19.who.int/table>.
- WHO model list of essential medicines: 21st list 2019. World Health Organization. hdl:10665/325771 (2019).
- Yoon, E., Babar, A., Choudhary, M., Kutner, M., Pysopoulos, N. (2016). Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 28, 131.
- Yurdakul, Ş., Bilkan, M.T. (2015). Spectroscopic and structural properties of 2, 2'-dipyridylamine and its palladium and platinum complexes. *Optics and Spectroscopy*, 119, 603.
- Zheng, Y. Z., Zhou, Y., Liang, Q., Chen, D. F., Guo, R., Lai, R. C. (2016). Hydrogen-bonding Interactions between Apigenin and Ethanol/Water: A Theoretical Study. *Scientific Reports*. 6, 34647.

Atf İçin: Yıldırım-Yalçın, M. (2024). Kırmızı Lahana Ekstraktının Kitosan-Nişasta Filmlerin Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 732-742.

To Cite: Yıldırım-Yalçın, M. (2024). Effect of Red Cabbage Extract on Characteristic Properties of Chitosan-Starch Films. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 732-742.

Kırmızı Lahana Ekstraktının Kitosan-Nişasta Filmlerin Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi

Meral YILDIRIM-YALÇIN

Öne Çıkanlar:

- Kitosan-nişasta film kırmızı lahana ekstraktı ile zenginleştirilmiştir
- Ekstrakt ilavesi filmlerin bazı özelliklerini değiştirmiştir
- Farklı pH'da renk değişimi sağlayan antosiyanince zengin filmler üretilmiştir

ÖZET:

Bu çalışmada, kırmızı lahana ekstraktı (hacimce %5, 10 ve 15 oranlarında) eklenmiş kitosan ve nişasta filmler hazırlanarak filmlerin kalınlık, yoğunluk, suda çözünürlük ve şişme gibi fiziksel özellikleri, su buharı geçirgenliği, opaklık ve mekanik (kopma mukavemeti ve kopma anındaki maksimum uzama) özellikleri karakterize edilmiştir. Ayrıca filmlerin toplam fenolik madde ve monomerik antosiyanin içerikleri ve farklı pH'larda 48 saat boyunca fenolik salımları incelenmiştir. Kırmızı lahana ekstrakt miktarının artmasıyla filmlerin kalınlık ve suda çözünürlük değerleri artarken, suda şişme değerleri azalmıştır ($p<0.05$). Su buharı geçirgenlik özellikleri ekstrakt ilavesinden etkilenmemiştir ($p>0.05$). Ekstrakt miktarının artmasıyla daha opak filmler elde edilmiştir ($p<0.05$). Kopma anındaki maksimum uzama miktarı %10-15 ekstrakt içeren filmlerde azalırken ($p<0.05$) kopma mukavemetinde değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$). Ekstrakt miktarı %10-15 olan filmlerde asidik ortamda fenolik madde salımı olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler:

- Kitosan
- Mısır nişastası
- Kırmızı lahana ekstraktı
- Yenilebilir film

Effect of Red Cabbage Extract on Characteristic Properties of Chitosan-Starch Films

Highlights:

- Chitosan-starch film is enriched with red cabbage extract
- Extract addition changed some of the properties of the films
- Anthocyanin-rich films produced that provide color change at different pH

ABSTRACT:

In this study, red cabbage extract (5, 10 and 15% v/v) added chitosan and starch films were prepared and the physical properties of the films such as thickness, density, water solubility and swelling, water vapor permeability, opacity and mechanical (tensile strength and maximum elongation at break) properties were characterized. In addition, total phenolic and monomeric anthocyanin contents of the films and phenolic releases at different pH for 48 hours were investigated. With the increase in the amount of red cabbage extract, the thickness and water solubility values of the films increased, while the swelling values decreased ($p<0.05$). Water vapor permeability properties were not affected by the addition of extract ($p>0.05$). More opaque films were obtained by increasing the amount of extract ($p<0.05$). While the maximum elongation at break decreased in films containing 10-15% extract ($p<0.05$), no change was observed in tensile strength ($p>0.05$). It was observed that there was phenolic release in the films with 10-15% extract in the acidic environment.

Keywords:

- Chitosan
- Maize starch
- Red cabbage extract
- Edible film

Meral YILDIRIM-YALÇIN ([Orcid ID: 0000-0002-5885-8849](https://orcid.org/0000-0002-5885-8849)), İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Meral YILDIRIM-YALÇIN, e-mail: meralyildirimyalcin@aydin.edu.tr

GİRİŞ

Ambalaj, gıdayı bir bariyer gibi sararak kimyasal, biyolojik ve fiziksel etkilere karşı korumaktadır. Böylece gıdanın taşıma ve depolama süreçleri sırasında kalitesini ve güvenliğini koruyarak raf ömrünün uzamasını sağlamaktadır (Khalid ve Arif, 2022). Gıda ambalajları ayrıca müşteriye gıda hakkında bilgiler vererek gıdanın tanıtılmasına ve pazarlamasına yardımcı olmaktadır. Petrol esaslı plastik malzemeler çok çeşitli şekillerde üretilebilmeleri ve sahip oldukları hafiflik, mekanik dayanım, bariyer ve ısı yapışma gibi üstün özellikleri ile gıda ambalajı olarak sıklıkla tercih edilmektedir (Kumar ve ark., 2020). Ancak günümüzde plastik atık miktarının artmasıyla ortaya çıkan çevresel problemler, biyolojik polimerlerden biyobozunur ambalaj malzemeleri üretilmesine olan ilgiyi arttırmaktadır (Haghighi ve ark., 2020).

Yenilenebilen kaynaklardan üretilen biyobozunur polimerler; tarımsal biyopolimerler, kimyasal sentezle elde edilen biyomonomer polilaktik asit ve mikrobiyal biyopolimerler kullanılarak elde edilirler. Çeşitli polisakkaritler, proteinler, yağlar ve türevleri biyobozunur ve yenilebilir ambalaj malzemesi üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır (Haghighi ve ark., 2020). Nişasta film oluşturma özelliğine sahip, ucuz ve çeşitli kaynaklardan elde edilen bir biyopolimerdir. Nişasta, film oluşturulması sırasında su ile karıştırılarak ısıtılır ve jelatinize olması sağlanır. Nişasta filmlere bir plastikleştirici (genellikle gliserol, sorbitol gibi polioller) eklenerek filmlerin kırılması ve çatlaması önlenmiş olur. Nişasta filmler biyobozunur, yenilebilir, esnek ve şeffaf özelliktedir. Ancak bariyer ve mekanik özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Lauer ve Smith, 2020; Talón ve ark., 2017a). Film üretiminde nişastanın güçsüz özelliklerinin geliştirilmesi için kitosan gibi başka biyopolimerler ile birlikte kullanılmaktadır (Talón ve ark., 2017a). Kitosan kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarından ve deniz atıklarından elde edilen biyoyumlu ve biyobozunur özellikte bir biyopolimerdir. Ayrıca toksik değildir, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Mujtaba ve ark., 2019). Kitosan filmlerin mekanik özellikleri iyidir ancak su buharı geçirgenlikleri yüksektir (Talón ve ark., 2017a).

Biyobozunur filmlere çeşitli maddelerin ilavesi ile yeni özellikler kazandırılmaktadır. Üretilen aktif filmler kaplandıkları gıdanın kalitesini ve raf ömrünü olumlu etkilemektedir. Örneğin; gıdalardaki nem kaybının, renk ve tekstür kayıplarının, mikrobiyal bozulmanın azalması, oksidasyonun engellenmesi ve duyu özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla çeşitli bitkisel ekstraktlar, esansiyel yağlar, organik asitler, bakteriyosinler ve nanomalzemeler ilave edilmektedir (Kontominas, 2020). Ayrıca antosiyanince zengin ekstraktlar filmlere akıllı ambalaj özelliği kazandırmaktadır. Antosiyaninler, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile filmde kullanıldıklarında kaplandıkları gıdanın raf ömrünü uzatıcı etki göstermektedir. Ayrıca antosiyanin içeren filmler pH değişimlerine bağlı olarak renk değişimi sağlamak ve kaplandığı gıdanın tazeliği veya durumu ile ilgili tüketiciye bilgi vererek akıllı ambalaj görevi yapmaktadır (Yong ve Liu, 2020). Gıdaların bozulması sırasında pH değişiklikleri olmaktadır, bu nedenle pH değişimine duyarlı ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir (Bilgiç ve ark., 2019). Son yıllarda maviyemiş (Luchese ve ark., 2018), patlıcan (Bilgiç ve ark., 2019), hibiskus (Zhang ve ark., 2019), mor tatlı patates (Jiang ve ark., 2020), kırmızı dikenli armut (Halloub ve ark., 2023) gibi farklı bitkilerden elde edilen antosiyanince zengin ekstraktlar kullanılarak aktif ve akıllı ambalajlar geliştirilmektedir.

Kırmızı lahana (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* F. *rubra*) Akdeniz bölgesine özgü severek tüketilen kışlık bir sebzedir. Kırmızı lahana antosiyaninler başta olmak üzere pek çok fenolik bileşik içerir. Besin içeriği nedeniyle tüketilmesi birçok kanser türü ve kalp rahatsızlıklarına karşı önleyici etki göstermektedir (Izzo ve ark., 2020; Maltaş ve ark., 2017). Bu özellikleri ile kırmızı lahana ekstraktı, biyopolimer gıda ambalajlarında kullanıma oldukça uygundur. Bu çalışmada, nişasta ve kitosan

kullanılarak üretilen filme farklı oranlarda kırmızı lahana ekstraktı ilave edilerek yeni bir aktif ve akıllı ambalaj geliştirilmesi amaçlanmıştır. Literatürde özellikle ekstrakt ilave edilerek çeşitli formülasyonlarda üretilen filmlerin fenolik salımı konusunda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, üretilen filmlerin fiziksel, mekanik, su buharı geçirgenlik ve optik özellikleri, toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarları ve ayrıca fenolik salım özelliklerinin karşılaştırılması yapılarak literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Film yapımında yüksek molekül ağırlıklı kitosan, glasiyel asetik asit, gliserol çözeltisi (%85-88, (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya)) ve kimyasal analizlerde kullanılan Folin Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, potasyum klorür ve sodyum asetat (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya) ve gallik asit (Isolab, Almanya), analitik saflıkta kimyasal firmalarından temin edilmiştir. Mısır nişastası ve kırmızı lahana (Kepez, Antalya'da yetiştirilen) İstanbul'daki bir marketten temin edilmiştir.

Kırmızı Lahana Ekstraktının Hazırlanması

Kırmızı lahana örnekleri laboratuvara getirildikten sonra kullanılıncaya kadar 4 °C'de saklanmıştır. Lahana yaprakları ayrılarak bir laboratuvar blenderında küçük parçacıklar halinde öğütülmüştür. Öğütülmüş lahana yaprakları (30 g) 100 mL etanol/distile su (50/50, h/h) çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım ağzı kapalı şekilde ultrasonik su banyosunda (RK510, Bandelin Sonorex, Almanya) 30 dk süresince ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda karışım filtre edildikten sonra rotary evaporatörde buharlaştırılarak etanolü uzaklaştırılmıştır ve elde edilen sulu ekstrakt film çözeltisine katılmak üzere ayrılmıştır. Ekstrakt film çözeltisi hazırlanmadan hemen önce taze olarak elde edilmiştir.

Filmlerin Hazırlanması

Filmler dökme ve solvent evaporasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Kitosan çözeltisi (%2, a/h) %1 (h/h) asetik asit çözeltisinde 24 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak hazırlanmıştır. Süre sonunda kitosan miktarının ağırlıkça %20'si kadar gliserol eklenerek mekanik karıştırıcı (IKA RW 20, Almanya) ile 400 rpm'de 15 dk süre ile karıştırılmıştır. Mısır nişastası (%2, a/h) su ile karıştırılarak 85 °C'de su banyosunda 30 dk boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırılarak jelatinize edilmiştir. Oda sıcaklığında soğutulan nişasta çözeltisine nişastanın ağırlıkça %20'si kadar gliserol ilave edilerek 400 rpm'de 15 dk karıştırılmıştır (Talón ve ark., 2017a). Kontrol film (K) için hazırlanan kitosan ve nişasta çözeltilerinden eşit hacimlerde karıştırılmıştır. Ekstrakt içeren filmlerde ise sıvı formdaki ekstrakt film çözeltisinin hacimce %5, %10 ve %15'i (E-%5, E-%10, E-%15) olacak şekilde eklenmiştir. Ekstrakt ile film çözeltisine ilave edilen su miktarı kadar nişasta çözeltisi hazırlama aşamasında daha az su kullanılmıştır. Tüm karışım 3 dk 10.000 rpm'de karıştırılarak homojenize edilmiştir. Çözelti içerisindeki gazın giderilmesi (degassing) için ultrases su banyosunda 15 dk bekletilmiştir ve 140 mm çapında ağız açıklığına sahip polistiren petrilere 22 mL dökülmüştür. Film çözeltileri 30 °C'de fansız etüvde 2 gün kurutulmuştur. Kurutulan filmler 4 gün boyunca doymuş Mg(NO₃)₂ içeren desikatörde (%55 bağıl nem) 25 °C'de saklanmıştır.

Filmlerin Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin kalınlığı farklı petrilere alınan örneklerin farklı noktalarından ölçüm alınmasıyla bulunmuştur. Kalınlık ölçümleri 0.001 mm hassasiyete sahip bir mikrometre (3109-25A, Insize, Almanya) ile yapılmıştır. Filmlerin yoğunluk değerleri, yaklaşık 40 mm x 40 mm boyutlarında kesilen kare film örneklerinin ağırlığının, her boyutunun üç farklı noktadan ölçülüp hesaplanan hacmine bölünmesi ile hesaplanmıştır (g/cm³).

Yaklaşık 20 mm çapında kesilen yuvarlak şekilli film örnekleri suda çözünürlük analizi öncesinde 80 °C’de vakum etüvde (EV018, Nüve, Türkiye) kurutulularak ilk ağırlık ölçümü alınmıştır. Örnekler oda sıcaklığında 50 mL distile su içerisinde 24 saat boyunca sürekli olarak çalkalanarak (SSL1, Stuart, UK) bekletilmiştir. Süre sonunda suda çözünmeyen kısım 80 °C’de vakum etüvde kurutulularak ağırlık ölçümü ile bulunmuştur. İlk ağırlıktan suda çözünmeyen kısmın çıkarılması ile suda çözünen film miktarı hesaplanmıştır. Suda çözünen film miktarının ilk ağırlığa oranının yüzdesi ise suda çözünürlük oranını vermektedir (Kurtfaki ve Yildirim-Yalcin, 2023).

Suda şişme analizi için ise ilk ağırlığı alınan film örnekleri oda sıcaklığındaki 50 mL suda 30 dk bekletilmiştir. Sudan çıkarılan film örneklerinin yüzeyindeki fazla su filtre kağıdı yardımıyla alınarak son ağırlığı alınmıştır. Suda şişme oranı filmlerin aldığı su miktarının filmlerin ağırlığına bölünmesiyle hesaplanmıştır (Cao ve ark., 2007).

Filmlerin Su Buharı Geçirgenliğinin Belirlenmesi

Su buharı geçirgenliği ASTM E96/E96M (ASTM, 2015a) standart su metodunun modifiye versiyonuna göre yapılmıştır (McHugh ve ark., 1993). Su buharı geçirgenliği ölçümü yapmak amacıyla filmlerden dairesel örnekler kesilmiştir. Analizlerde dairesel bir ağız açıklığına sahip alüminyum test kaplarına 20 mL distile su konularak, kabın su seviyesi ile filmin yerleştirileceği yüzey arasındaki mesafe ölçülmüştür. Filmlerden kesilen örneklerin kalınlık ölçümleri alınarak alüminyum kaplara bir O-ring üzerine sabitlenmiş ve kapların kapağı simetrik yerleşmiş vidalar ile kapatılmıştır. İçerisine su konulan ve ağzına film yerleştirilen kapların ilk ağırlığı tartılarak 25 °C’de doygun Mg(NO₃)₂ çözeltisi içeren 53 ± 2 bağıl nemdeki desikatöre yerleştirilmiştir. Test kaplarının 8 saat süresince her saat ağırlık kayıpları gravimetrik olarak ölçülmüştür. Filmlerin su buharı geçirgenlik oranı zamana karşı ağırlık kaybı grafiğinin eğiminin film yüzey alanına bölünmesi ile bulunmuştur. Su buharı geçirgenliği (gmm/m²hkPa), hesaplanan geçirgenlik oranının film kalınlığı ile çarpılması ve düzeltilmiş kısmi buhar basınçları kullanılarak hesaplanan kısmi buhar basıncı farkına bölünmesi ile hesaplanmıştır.

Filmlerin Optik Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin şeffaflık değeri 560 nm’de UV-Vis spektrofotometrede (T60UV, PG instruments, Birleşik Krallık) %T ölçümü yapılarak belirlenmiştir (D1746, ASTM, 2015). Ölçümde spektrofotometre kuvvetlerine yerleştirilen dikdörtgen şeklinde kesilmiş film örnekleri (10 x 40 mm) kullanılmıştır. Filmlerin opaklık değerleri ise 600 nm’de alınan absorbans değerinin filmlerin kalınlığına bölünmesi ile hesaplanmıştır (AU/mm) (Park ve Zhao, 2004).

Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Kopma mukavemeti (N/mm²) ve kopma anındaki maksimum uzama (%) değerleri ASTM D-882 (ASTM, 2012) standardına uygun olarak ölçülmüştür. Analizde dikdörtgen şeklinde kesilen (15 mm x 70 mm) film örnekleri çekme testi cihazının (LAB3-2512A, Mesdan Lab, İtalya) birbirlerine 40 mm mesafede bulunan çenelerine tutturulmuştur. Analizlerde 100 N yük hücresi ve 25 mm/dk hız kullanılmıştır.

Filmlerin Toplam Fenolik ve Monomerik Antosiyanin Tayini

Yaklaşık 0.3 g film örnekleri küçük parçalara kesilerek 10 mL %80’lik etanol çözeltisi ile deney tüplerinde karıştırılmıştır. Tüpler sürekli çalkalanarak 24 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta ekstrakte edilmiştir. Sonrasında yarım saat süre ile ultrases su banyosunda tutulmuşlardır. Hazırlanan ekstraktlar filtre edilerek film parçalarından ayrılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı için Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (Marquez ve ark., 2017). Deney tüpüne aktarılan ekstrakt üzerine 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 mL distile su eklenerek Vortex ile karıştırılmıştır.

Tüpler 3 dk inkübe edildikten sonra 1 mL %7.5 (a/h) sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve karışım 25 °C'de karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin 765 nm'de UV-Vis spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi Gallik asit ile oluşturularak sonuçlar 100 g filmde mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır.

Toplam monomerik antosiyanin tayininde ise aynı ekstraktlar kullanılarak pH-diferansiyel metot uygulanmıştır (Ahmadiani ve ark., 2014). Farklı pH'lardaki tampon çözeltiler (0.025 M potasyum klorür: pH 1 ve 0.4 M sodyum asetat: pH 4.5) ile ekstraktlar 1:10 oranında seyreltilerek 15 dk karanlıkta dengelenmiştir. Hazırlanan tüm dilüsyonların absorbans değerleri UV-Vis spektrofotometrede 520 ve 700 nm'de okunmuştur. Filmin (100 g) içerdiği toplam monomerik antosiyanin miktarı mg cyanidin-3-glucoside (Cy3G) cinsinden Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Monomerik antosiyanin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH 1} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4.5} \quad (2)$$

Formüldeki MW Cy3G için moleküler ağırlığı (449.2 g/mol); DF seyreltme faktörünü; ϵ molarabsorpsiyon katsayısını (26900 l/Mcm); l ise küvetin ışık yolu uzunluğu olan 1 cm'yi temsil etmektedir.

Filmlerden Fenolik Madde Salımı

Film örneklerinden 30 mm x 30 mm boyutlarında kesilen parçalar farklı gıda matrislerindeki fenolik salımını gözlemlemek amacıyla üç farklı pH'daki çözelti içerisine konulmuştur. Bu amaçla distile su (pH 5.48), %3 (h/h) asetik asit (pH 2.67) ve %95 (h/h) etanol (pH 7.37) kullanılmıştır. Filmler deney tüplerinde farklı pH'daki sıvılar içerisinde 25 ± 2 °C'de bekletilmiştir ve 1, 3, 24 ve 48 saat sonunda örnek alınarak ne kadar fenolik geçişi olduğu toplam fenolik madde analizi belirlenmiştir. Süre sonlarında tüplerden 1 mL örnek alınmıştır ve aynı miktar taze kimyasal tüplere eklenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Analizler en az 3 paralel olacak şekilde yapılmıştır ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 19 (IBM SPSS 19, SPSS Inc., Chicago, ABD) programı ile Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve post-hoc Duncan çok yönlü karşılaştırma testi uygulanmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak $p=0.05$ seçilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Filmlerin Fiziksel Özellikleri ve Su Buharı Geçirgenliği

Filmlerin kalınlık, yoğunluk, suda çözünürlük ve şişme oranı analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Kalınlık ölçümlerine göre yüksek oranda ilave edilen kırmızı lahana ekstraktı (E-%15) filmlerin kalınlığını anlamlı derecede arttırmıştır ($p<0.05$). Diğer oranlarda ilave edilen ekstrakt kontrole göre kalınlık değerlerinde anlamlı bir farka neden olmamıştır ($p>0.05$). İlave edilen ekstrakt ile filmin artan katı madde içeriği kalınlığın artmasına neden olmuştur (da Rosa ve ark., 2020). Filmlerin yoğunluk değerleri 1.06-1.24 g/cm³ aralığında değişmektedir. Ekstrakt ilavesinin yoğunluk değerleri üzerine anlamlı bir etkisi olmamıştır ($p>0.05$). Suda çözünürlük değerleri %17.61-%57.93 aralığında bulunmuştur. Az miktarda ilave edilen ekstraktın (%5) çözünürlüğü etkilemediği görülmektedir ($p>0.05$). Daha yüksek oranlarda ilave edilen ekstrakt (%10 ve %15) ise çözünürlük değerinin giderek artmasına neden olmuştur. Benzer şekilde Wang ve ark. (2013) kitosan filme çay polifenollerinin eklenmesinin filmlerin suda çözünürlüğünü arttırdığını rapor etmiştir.

Filmlerin şişme oranı (g alınan su/g film) polimer zincirlerindeki molekül içi bağlanmayla ilgilidir ve düşük şişme oranı su bariyer özelliği ile ilişkilendirilebilir (Nguyen ve ark., 2020). Çizelge 1'de

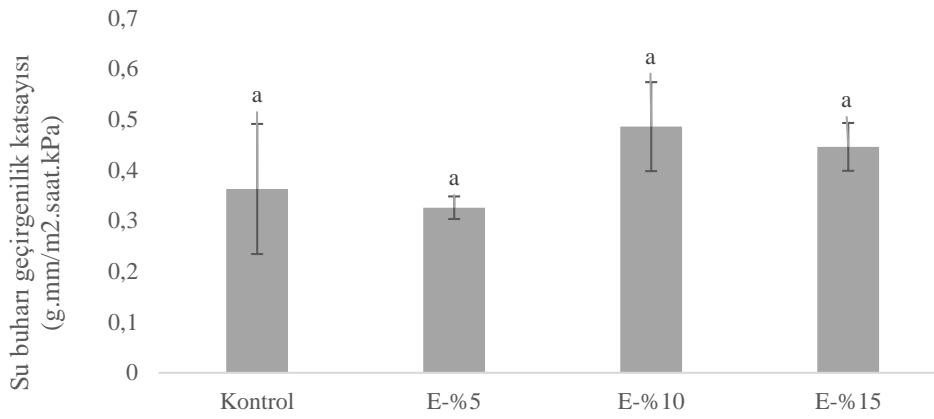
filmlere ekstrakt ilave edilmesiyle suda şişme oranlarında azalma olduğu görülmektedir. Yüksek oranda ilave edilen ekstrakt ile en düşük suda şişme değeri elde edilmiştir (0.50 g/g).

Çizelge 1. Filmlerin fiziksel özellikleri

| Film | Kalınlık (μm) | Yoğunluk (g/cm^3) | Suda çözünürlük (%) | Şişme oranı (g/g) |
|---------|--------------------------------|--|-------------------------------|------------------------------|
| Kontrol | 27.39 ^{bc} \pm 6.73 | 1.06 ^a \pm 0.06 | 26.05 ^c \pm 1.46 | 1.26 ^a \pm 0.06 |
| E-%5 | 26.81 ^c \pm 7.17 | 1.15 ^a \pm 0.11 | 17.61 ^c \pm 2.72 | 0.88 ^b \pm 0.02 |
| E-%10 | 29.72 ^{ab} \pm 7.05 | 1.23 ^a \pm 0.07 | 40.40 ^b \pm 7.14 | 0.89 ^b \pm 0.01 |
| E-%15 | 30.77 ^a \pm 8.04 | 1.24 ^a \pm 0.11 | 57.93 ^a \pm 0.45 | 0.50 ^c \pm 0.01 |

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

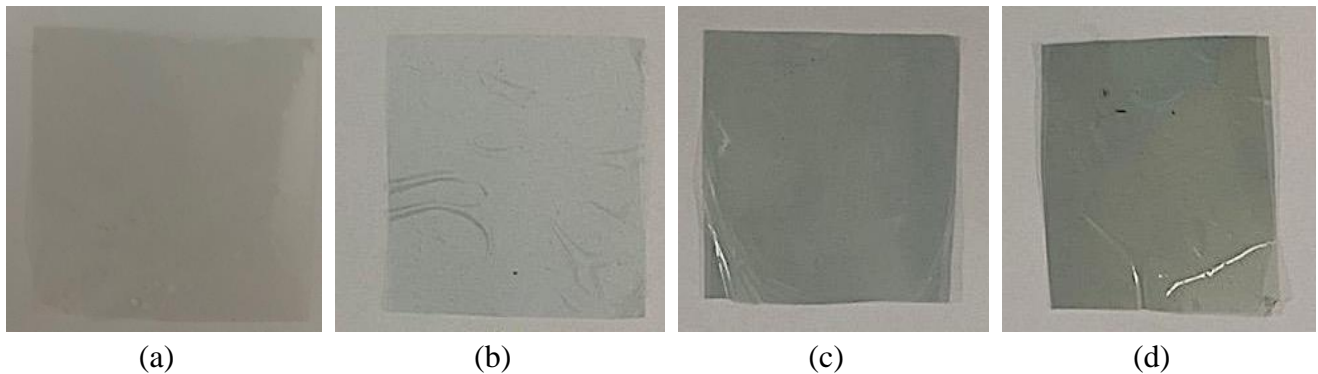
Öte yandan filmlerin su buharı geçirgenlik değerleri incelendiğinde (Şekil 1) ekstrakt ilavesi ile anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmektedir (p>0.05).



Şekil 1. Filmlerin su buharı geçirgenlik katsayısı değerleri

Filmlerin Optik Özellikleri

Üretilen filmlerin beyaz zemin üzerindeki fotoğrafları Şekil 2’de verilmiştir. Filmlerin ekstrakt içeriğine göre karakteristik renklerinde ve optik geçirgenliklerinde farklılıklar olduğu görülmektedir.



Şekil 2. Filmlerin fotoğrafları (a) Kontrol, (b) E-%5, (c) E-%10, (d) E-%15

Çizelge 2’de filmlerin UV-Vis spektrofotometresinde ölçülen şeffaflık (%T) ve opaklık (AU/mm) değerlerine göre yüksek oranda ekstrakt (%15) kullanılmasıyla şeffaflığın azaldığı ve opaklığın arttığı görülmektedir. %10 ekstrakt içeren örneklerin optik özelliklerinde ise kontrol filme göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (p>0.05). Kitosan filmlere yeşil çay ekstraktının eklenmesiyle konsantrasyona bağlı olarak opaklık değerinin arttığı benzer şekilde önceki bir çalışmada belirtilmiştir (Siripatrawan vve Harte, 2010).

Çizelge 2. Filmlerin optik özellikleri

| Film | Şeffaflık (%T) | Opaklık (AU/mm) |
|---------|---------------------------|---------------------------|
| Kontrol | 87.29 ^b ± 0.90 | 2.28 ^b ± 0.00 |
| E-%5 | 88.01 ^a ± 1.20 | 2.79 ^{ab} ± 0.43 |
| E-%10 | 83.00 ^b ± 0.06 | 2.95 ^{ab} ± 0.25 |
| E-%15 | 80.14 ^c ± 0.12 | 3.60 ^a ± 0.44 |

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

Filmlerin Mekanik Özellikleri

Mekanik özellikler filmlerin fiziksel dayanımı ile ilgili bilgi verdikleri için oldukça önemlidir. Filmlere ait kopma mukavemeti (N/mm²) ve kopma anındaki maksimum uzama (%) değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Kontrol film için kopma mukavemeti 11.60 N/mm² ve kopma anındaki maksimum uzama %27.75 olarak bulunmuştur. Meng ve ark. (2020) kitosan ve patates nişastası ile hazırlanan filmler için benzer sonuçlar rapor etmiştir (kopma mukavemeti için 19.74 MPa ve maksimum uzama değeri için %16.03). Kopma mukavemeti değerleri ortalama 11.60 ve 12.87 N/mm² aralığında değişmektedir ve filmler arasında anlamlı bir farklılığa sahip değildir. Başka bir ifade ile kırmızı lahana ekstraktının eklenmesi kitosan ve nişasta içeren filmin kopma mukavemeti üzerinde herhangi bir anlamlı etki oluşturmamıştır. Kopma anındaki yüzde maksimum uzama değeri ise %10 ve %15 oranında ekstrakt içeren filmlerde kontrol ve %5 oranında ekstrakt içeren filmlere göre daha düşüktür (p<0.05). Talón ve ark. (2017b) sadece kitosan filmlere kekik ekstraktı ve tannik asit ilavesi ile oluşan kitosan-polifenol etkileşimi sonucunda kopma mukavemetinde artış ve maksimum uzama değerinde düşüş olduğunu belirtmiştir. Kitosan-nişasta karışımı filmlerde ise filmlerin maksimum uzama değerinde düşüş meydana gelirken kopma mukavemeti değişmemiştir. Bu durum nişastanın kitosan-polifenol etkileşimini kısıtladığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çizelge 3. Filmlerin mekanik özellikleri

| Film | Kopma mukavemeti (N/mm ²) | Kopma anındaki maksimum uzama (%) |
|---------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Kontrol | 11.60 ^a ± 0.51 | 27.75 ^a ± 4.68 |
| E-%5 | 12.87 ^a ± 0.50 | 24.19 ^a ± 4.17 |
| E-%10 | 12.46 ^a ± 0.77 | 12.00 ^b ± 1.30 |
| E-%15 | 12.80 ^a ± 1.42 | 14.63 ^b ± 3.71 |

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

Filmlerin Toplam Fenolik, Antosiyanin İçerikleri ve Fenolik Salımı

Filmlerin toplam fenolik madde miktarı ortalama olarak 6.35 ve 47.94 mg GAE/100 g film aralığında bulunmuştur (Çizelge 4). Filmlerde kullanılan kırmızı lahana ekstrakt miktarı arttıkça filmlerin toplam fenolik madde miktarı da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmaktadır (p<0.05). Toplam monomerik antosiyanin miktarı ise ortalama 3.82 ve 10.21 mg Cy3G/100 g film aralığında bulunmuştur (Çizelge 4). Ekstrakt miktarı ile toplam antosiyanin miktarı artarken %10 ve %15 ekstrakt içeren filmler arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p>0.05).

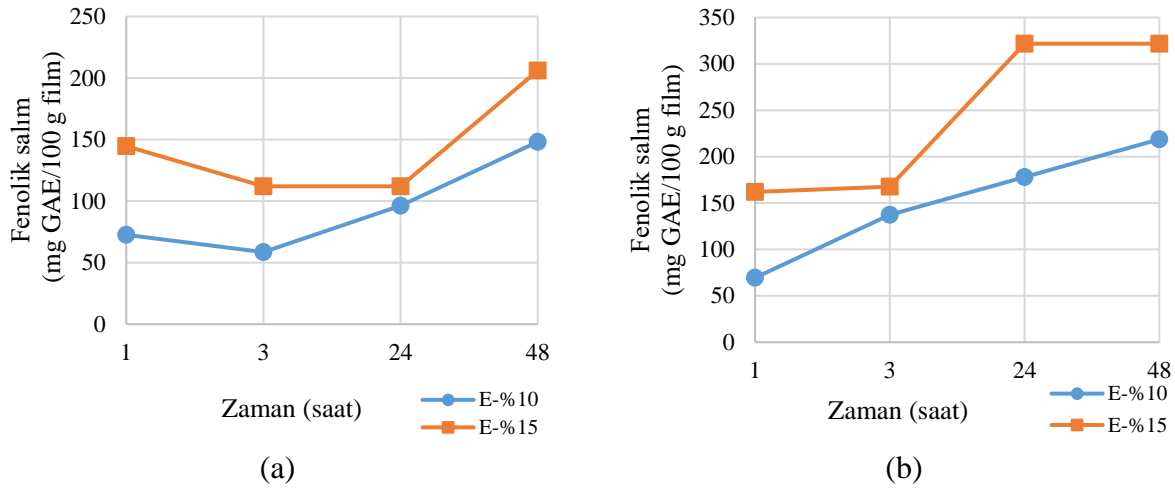
Filmlerden kesilen örnekler farklı pH'lardaki distile su (pH 5.48), %3 asetik asit (pH 2.67) ve %95 etanol (pH 7.37) çözeltileri içerisinde belli sürelerde bekletilerek filmde bulunan fenolik madde geçişi analiz edilmiştir. Kontrol ve %5 ekstrakt içeren filmin bulunduğu tüplerden alınan sıvı örneklerde spektrofotometrik olarak yapılan toplam fenolik madde analizinde fenolik madde tespit edilememiştir. Ayrıca distile su ve asetik asite göre daha yüksek pH'ya sahip %95 etanol çözeltisi içerisinde bekletilen filmlerden de 48 saat süresince fenolik geçişi tespit edilememiştir. %10 ve %15 ekstrakt içeren filmlerden distile su ve %3 asetik asit çözeltilerine geçen fenolik madde miktarlarının zamana bağlı olarak salımı Şekil 3'de görülmektedir. Şekil 3'e göre zamanla fenolik madde geçişinde artış olduğu görülmektedir. Asetik asit çözeltisindeki filmlerden distile su içerisindeki filmlere oranla daha yüksek

miktarlarda fenolik geçişi olmuştur. Kitosan düşük pH'larda daha fazla çözündüğü için asidik ortamdaki filmlerden fenolik madde geçişinin daha fazla olduğu görülmüştür (Gomaa ve ark., 2018; Nguyen ve ark., 2022).

Çizelge 4. Filmlerin toplam fenolik ve antosiyanin miktarı

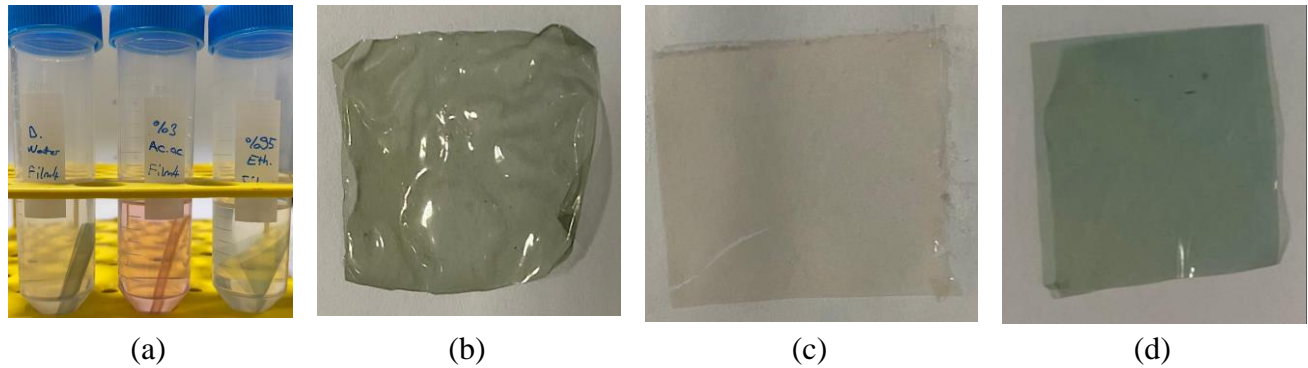
| Film | Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g film) | Toplam monomerik antosiyanin (mg Cy3G/100 g film) |
|---------|--|---|
| Kontrol | 6.35 ^d ± 0.30 | 0 |
| E-%5 | 27.22 ^c ± 1.97 | 3.82 ^b ± 0.86 |
| E-%10 | 40.39 ^b ± 1.26 | 10.21 ^a ± 1.43 |
| E-%15 | 47.94 ^a ± 2.42 | 9.21 ^a ± 1.54 |

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).



Şekil 3. Ekstrakt içeren E-%10 ve E-%15 filmlerin (a) distile suda ve (b) %3 asetik asit içerisinde fenolik salım miktarları

Şekil 4a'da yüksek oranda ekstrakt içeren E-%15 filminin farklı pH'lara daldırılması sonucunda meydana gelen renk değişimi görülmektedir. Şekil 4b-d'de ise fenolik salım testleri sırasında 48 saat distile su, asetik asit ve etanol çözeltilerinde bekletilmiş olan E-%15 filmin çıkarılıp kurutulması sonrasındaki renk farklılıkları görülmektedir. Üretilen filmler antosiyanin içerikleri ile farklı pH tamponlarında renk değişimi oluşturmaktadır. Antosiyanin bileşikler farklı pH değerlerindeki yapısal farklılıklarından dolayı renk değişimi gösterirler (Gutiérrez ve ark., 2017). Ekstrakt içeren filmlerde daha düşük pH değerlerinde kırmızımsı renkler oluşurken daha yüksek pH değerlerinde mavimsi renkler oluştuğu görülmüştür. Bu durum, kırmızı lahana ekstraktı ilave edilerek üretilen kitosan ve nişasta filmin pH-duyarlı akıllı ambalajlar geliştirilmesinde kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. (a) E-%15 film farklı pH daki çözeltilerin içindeki renk değişimleri, 48 saat sonunda (b) distile su, (c) %3 asetik asit, (d) %95 etanol içerisinde çıkarılan E-%15 filmin görüntüsü

SONUÇ

Bu çalışmada kırmızı lahanadan elde edilen ekstraktın kitosan ve mısır nişastası ile üretilen film matrisine eklenmesi çalışılmıştır. Kırmızı lahanaya ekstraktı farklı oranlarda (hacimce %5, 10 ve 15) film çözeltisine ilave edilmiştir. Yüksek oranda ekstrakt içeren filmlerin kalınlık değerlerinde artış olduğu görülmüştür. Ayrıca yüksek ekstrakt içeriğinde suda çözünürlük değerleri artarken yoğunluk, su buharı geçirgenliği değerleri değişmemiş ve suda şişme değerleri azalmıştır. Ekstrakt miktarına bağlı olarak filmlerin şeffaflığında azalma ve opaklığında artma olduğu görülmüştür. Filmlerin mekanik özelliklerinden kopma mukavemetinde ekstrakt içeriğine bağlı bir değişim görülmemiştir. Kopma anındaki maksimum uzama değerleri ise %10 ve %15 ekstrakt içeren filmler için azaldığı görülmüştür. Ayrıca filmlerden 48 saat boyunca farklı pH'daki çözeltelerde fenolik madde geçişi incelenmiştir. Kontrol ve %5 ekstrakt içeren filmlerde fenolik madde geçişi gözlenmemiştir. Etanol çözeltisinde (pH 7.37) bekletilen filmlerden de fenolik madde geçişi gözlenmemiştir. Ekstrakt içeriği %10 ve %15 olan filmler için asidik ortamda (pH 2.67) 48 saat boyunca fenolik madde geçişi artmıştır. Kırmızı lahanaya ekstraktı, içeriğindeki antosiyanin bileşikler ile filmlerin farklı pH değerlerinde renk değişimi göstermesine neden olmuştur. Bu bilgiler, kırmızı lahanaya ekstraktının, renk değişimi sağlayarak pH değişimleri hakkında bilgi veren akıllı ambalajlar üretmek için kitosan-nişasta filmlerine eklenme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu tür filmler et, tavuk ve deniz ürünleri gibi hassas gıdaların depolama boyunca tazeliği hakkında bilgi almak amacıyla kullanılabilir. Ancak her gıdanın bozulma mekanizması farklı olduğu için geliştirilen filmlerin farklı gıda denemelerine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Ahmadiani, N., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Giusti, M. M. (2014). Anthocyanins contents, profiles, and color characteristics of red cabbage extracts from different cultivars and maturity stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(30), 7524-7531.
- ASTM (2012). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting - D882-12. West Conshohocken, PA: ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods.
- ASTM (2015). Standard test method for transparency of plastic sheeting - D1746-15. West Conshohocken, PA: ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods.
- ASTM (2015a). Standard test method for water vapor transmission of materials - E96/E96M- 15. West Conshohocken, PA: ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods.
- Bilgiç, S., Söğüt, E., & Seydim, A. C. (2019). Chitosan and starch based intelligent films with anthocyanins from eggplant to monitor pH variations. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7, 61-66.
- Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1153-1162.
- Gomaa, M., Hifney, A. F., Fawzy, M. A., & Abdel-Gawad, K. M. (2018). Use of seaweed and filamentous fungus derived polysaccharides in the development of alginate-chitosan edible films containing fucoidan: Study of moisture sorption, polyphenol release and antioxidant properties. *Food Hydrocolloids*, 82, 239-247.
- Gutiérrez, T. J., Ponce, A. G., & Alvarez, V. A. (2017). Nano-clays from natural and modified montmorillonite with and without added blueberry extract for active and intelligent food nanopackaging materials. *Materials Chemistry and Physics*, 194, 283-292.

- Haghighi, H., Licciardello, F., Fava, P., Siesler, H. W., & Pulvirenti, A. (2020). Recent advances on chitosan-based films for sustainable food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100551.
- Halloub, A., Raji, M., Essabir, H., Nekhlaoui, S., Bensalah, M. O., & Bouhfid, R. (2023). Stable smart packaging betalain-based from red prickly pear covalently linked into cellulose/alginate blend films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 234, 123764.
- Izzo, L., Rodríguez-Carrasco, Y., Pacifico, S., Castaldo, L., Narváez, A., & Ritieni, A. (2020). Colon bioaccessibility under in vitro gastrointestinal digestion of a red cabbage extract chemically profiled through UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Antioxidants*, 9(10), 955.
- Jiang, G., Hou, X., Zeng, X., Zhang, C., Wu, H., Shen, G., ... & Zhang, Z. (2020). Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 359-372.
- Khalid, M. Y., & Arif, Z. U. (2022). Novel biopolymer-based sustainable composites for food packaging applications: A narrative review. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100892.
- Kontominas, M. G. (2020). Use of alginates as food packaging materials. *Foods*, 9(10), 1440.
- Kumar, S., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2020). Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 196-209.
- Kurtfaki, M., & Yildirim-Yalcin, M. (2023). Characterization of *Laurus nobilis* L. leaf essential oil incorporated maize starch and rice protein films. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-9.
- Lauer, M. K., & Smith, R. C. (2020). Recent advances in starch-based films toward food packaging applications: Physicochemical, mechanical, and functional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3031-3083.
- Luchese, C. L., Abdalla, V. F., Spada, J. C., & Tessaro, I. C. (2018). Evaluation of blueberry residue incorporated cassava starch film as pH indicator in different simulants and foodstuffs. *Food Hydrocolloids*, 82, 209-218.
- Maltaş, A. Ş., Tavalı, İ. E., Uz, İ., & Kaplangörey, M. (2017). Kırmızı baş lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) yetiştiriciliğinde vermikompost uygulaması. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30(2), 155-161.
- Marquez, G. R., Di Pierro, P., Mariniello, L., Esposito, M., Giosafatto, C. V., & Porta, R. (2017). Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. *LWT*, 75, 124-130.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- Meng, W., Shi, J., Zhang, X., Lian, H., Wang, Q., & Peng, Y. (2020). Effects of peanut shell and skin extracts on the antioxidant ability, physical and structure properties of starch-chitosan active packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 137-146.
- Mujtaba, M., Morsi, R. E., Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J., & Khawar, K. M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889-904.

- Nguyen, T. T., Dao, U. T. T., Bui, Q. P. T., Bach, G. L., Thuc, C. H., & Thuc, H. H. (2020). Enhanced antimicrobial activities and physiochemical properties of edible film based on chitosan incorporated with *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. leaf extract. *Progress in Organic Coatings*, 140, 105487.
- Nguyen, T. T., Pham, B. T. T., Le, H. N., Bach, L. G., & Thuc, C. H. (2022). Comparative characterization and release study of edible films of chitosan and natural extracts. *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100830.
- Park, S. I., & Zhao, Y. (2004). Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(7), 1933-1939.
- da Rosa, G. S., Vanga, S. K., Garipey, Y., & Raghavan, V. (2020). Development of biodegradable films with improved antioxidant properties based on the addition of carrageenan containing olive leaf extract for food packaging applications. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 123-130.
- Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017a). Release of polyphenols from starch-chitosan based films containing thyme extract. *Carbohydrate Polymers*, 175, 122-130.
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017b). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1153-1161.
- Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., & Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35-41.
- Yong, H., & Liu, J. (2020). Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100550.
- Zhang, J., Zou, X., Zhai, X., Huang, X., Jiang, C., & Holmes, M. (2019). Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. *Food Chemistry*, 272, 306-312.

Atıf İçin: Kuşkapan, E. (2024). Toplu Ulaşım Sistemlerinde Verimliliğin Artırılması Amacıyla Makine Öğrenmesi Yöntemlerinden Yararlanılması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 743-754.

To Cite: Kuşkapan, E. (2024). Utilisation of Machine Learning Methods to Increase Efficiency in Public Transport Systems. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 743-754.

Toplu Ulaşım Sistemlerinde Verimliliğin Artırılması Amacıyla Makine Öğrenmesi Yöntemlerinden Yararlanılması

Emre KUŞKAPAN

Öne Çıkanlar:

- Kent içi ulaşım sistemleri
- Toplu taşımanın verimliliği
- Trafik güvenliği

Anahtar Kelimeler:

- Toplu taşıma
- Sürüş güvenliği
- Makine öğrenmesi
- Sürdürülebilir ulaşım

ÖZET:

Günlük ulaşım için toplu taşıma araçları sıklıkla tercih edilmektedir. Karayolu ulaşımında bu araçlar arasında en çok kullanılan türlerden biri otobüslerdir. Otobüsler, arabalardan çok daha fazla yolcu kapasitesine sahip olduğu için bu taşıtların sürücüleri çok daha fazla sorumluluk almaktadır. Yolculuk esnasında her yolcunun rahat, dakik ve güvenli ulaşımının sağlanması otobüs şoförlerinin sorumluluğundadır. Bu sorumlulukların fazlalığı otobüs şoförlerini psikolojik olarak etkileyebilmektedir. Bununla birlikte yaptıkları işin yorucu olması sebebiyle zaman zaman agresif tavırlar sergileyebilmektedirler. Yolculuk sırasında sürücü ile yolcu arasında çıkabilecek herhangi bir tartışma, çeşitli sorunlara neden olabilmektedir. Otobüslerinin içerisine yerleştirilen çok sayıda kamera ile sürücü ve yolcu davranışları gözlemlenebilmektedir. Bu uygulamanın yapıldığı kentlerden biri olan Erzurum'da Büyükşehir Belediyesi tarafından toplu taşıma otobüslerindeki denetimler raporlanmaktadır. Bu raporlar incelendiğinde kentte son 3 yıl içerisinde otobüs şoförleri ve yolcular arasında toplam 1068 adet tartışmanın olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, bu tartışmalar içeriklerine göre 13 kategoriye ayrılarak oluşturulan eğitim setindeki veriler makine öğrenmesi yöntemleriyle analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarında naive bayes algoritmasının en başarılı performans ortaya koyduğu görülmüştür. Tüm verilerin bu algoritma ile dağılımı yapıldığında tartışmalarda en fazla pay sahibi olan sürücü ve yolcu kaynaklı problemler ortaya konmuştur. Sonuçlar yorumlandığında toplu taşıma ulaşımının daha verimli şekilde gerçekleştirilmesi ve sürücü-yolcu tartışmalarının azaltılabilmesi için birtakım tavsiyelerde bulunulmuştur.

Utilisation of Machine Learning Methods to Increase Efficiency in Public Transport Systems

Highlights:

- Urban transportation systems
- Efficiency of public transportation
- Traffic safety

Keywords:

- Public transportation
- Driving safety
- Machine learning
- Sustainable transportation

ABSTRACT:

Public transportation vehicles are frequently preferred for daily transportation. Buses are one of the most common types of these vehicles in road transport. As buses have a much higher passenger capacity than cars, the drivers of these vehicles take on much more responsibility. It is the responsibility of the bus driver to ensure that each passenger is transported comfortably, punctually and safely during the journey. This extra responsibility can have a psychological impact on bus drivers. Due to the tiring nature of their work, they can sometimes exhibit aggressive behaviour. Any argument between the driver and the passenger during the journey can cause various problems. The behaviour of drivers and passengers can be monitored with a large number of cameras installed in the buses. In Erzurum, one of the cities where this practice is used, the Metropolitan Municipality reports the inspections of public transport buses. When these reports were analysed, it was found that there were a total of 1068 arguments between bus drivers and passengers in the last 3 years. These arguments were divided into 13 categories according to their content, and the data in the training set created was analysed using machine learning methods. The results of the analysis showed that the naive Bayes algorithm was the most successful. When all the data was distributed with this algorithm, the problems caused by drivers and passengers, which have the highest proportion of discussions, were revealed. When interpreting the results, some recommendations are made in order to make public transport more efficient and to reduce driver-passenger arguments.

Emre KUŞKAPAN ([Orcid ID: 0000-0003-0711-5567](https://orcid.org/0000-0003-0711-5567)), Erzurum Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Emre KUŞKAPAN, e-mail: emre.kuskapan@erzurum.edu.tr

GİRİŞ

Dünya genelinde her geçen gün artan taşıt sayısı ile birlikte trafik yoğunluğu da artış göstermektedir. Bu sebeple insanlar trafikte daha fazla zaman harcamak durumunda kalmaktadır. Trafikte harcanan zaman insanlarda sinir ve stres gibi olumsuz durumlara yol açabilmektedir. Bu duygular, özellikle sürücülerde daha çok ön plana çıkmaktadır. Bu durum sürücülerin trafik kuralı ihlali yapmasına, başka sürücü, yaya veya yolcular ile tartışmasına ve trafik kazası yapmalarına neden olabilmektedir. Bu nedenle trafikte güvenli ve sorunsuz yolculuk sağlanabilmesi için sürücü davranışlarının detaylı şekilde incelenmesi gereklidir.

Sürücü davranışlarını etkileyen faktörler çeşitlilik göstermektedir. Sürücü davranışını son yıllarda en belirgin olarak etkileyen faktör cep telefonu kullanımınıdır. Sürüş esnasında cep telefonu ile konuşulması sürücünün dikkatini önemli düzeyde etkilemektedir. Cep telefonu ile görüşme yapan sürücülerin intikal reaksiyon sürelerinin arttığı, trafik işaret ve levhalarının göz ardı edilebildiği ve daha agresif olabildikleri gözlemlenmiştir (Haque ve ark., 2021; Rosenberger, 2019). Sürücü davranışını etkileyen bir diğer önemli faktör ise sürüş deneyimidir. Genç sürücülerde genellikle sürüş deneyiminin daha az olmasına bağlı olarak kazaya karışma, trafikte güvenlik kurallarına uymama ve daha gergin olma gibi durumlar ile karşılaşmaktadır (Tronsmoen, 2010). Genç sürücülerde en çok görülen durumlardan birisi de trafikte heyecan yaşamak amacıyla birtakım riskleri almalarıdır. Daha deneyimli sürücüler güvenli ve risk içermeyen davranışlar sergilemektedir (Farooq ve Moslem, 2019; Hamarat ve Duran, 2020). Sürücü davranışını etkileyen bir diğer faktör ise diğer sürücülerin tutumlarıdır. Trafikte bir sürücünün gergin olması sebebiyle sergilediği davranışlar diğer sürücülerini de etkilemektedir. Uyuşturucu ve alkol tüketiminin de sürücü davranışını olumsuz yönde etkilediği oldukça bilinen bir durumdur. Özellikle araç kullanırken uyuşturucu veya alkol kullanan bireylerde trafik ihlallerinin arttığı, hataya daha çok meyilli oldukları, yolculukta gecikmeler yaşadıkları ve saldırgan yapıya sahip oldukları bilinmektedir (Farooq ve Moslem, 2020; Jomnonkwao ve ark., 2021). Benzer şekilde yorgunluk ve dikkat dağınıklığı da sürücü davranışını etkileyen önemli faktörlerdir. Sürücülerin yorgunken uzun mesafeli yolculuk yapması yolculuk esnasında uyuyakalması gibi çok ciddi riskler içermektedir. Kısa mesafeli yolculuklarda ise esneme ve gözün net görmemesi gibi durumlar riskler içermektedir. Dikkat dağınıklığı ise bireyin ruhsal yapısı veya taşıt kullanırken başka bir şey ile ilgilenmesinden kaynaklı olabilmektedir. Ruhsal olarak moral bozukluğu ve sınırlı olma durumu daha agresif sürüşe sebep olabilirken neşeli veya heyecanlı olma durumu ise yüksek hız yapma ve trafiği tehlikeye sokmaya sebep olabilmektedir. Dikkat dağınıklığına etki eden faktörler arasında ise sürüş esnasında birileri ile konuşmak, etrafı incelemek veya bir şeyler yiyip içmek yer almaktadır (Chhabra ve ark., 2017; Demircioğlu ev ark., 2019; Seth, 2020).

Sürücülerin sorumlulukları da kullandıkları taşıt türüne göre farklılık göstermektedir. Bireysel otomobil kullanan sürücülerin sorumlulukları daha az iken toplu taşıma araçlarını kullanan sürücülerin sorumlulukları çok daha fazladır. Bununla birlikte, toplu taşıma araçlarını kullanan sürücüler gün içerisinde önemli bir zamanlarını bu taşıtları kullanmakla geçirmektedirler. Bu sebeple yorgunluk ve iş yoğunluğundan kaynaklı daha gergin bir ruhsal yapıya sahip olabilmektedirler.

Toplu taşımada en sık kullanılan türlerden olan otobüslerde, sürekli yolcu inip binme durumu olduğu için taşıt içerisinde hareketlilik yaşanmaktadır. Bu durumla birlikte duraklarda da yolcu hareketliğine bağlı bir yoğunluk meydana gelmektedir. İnen veya binen yolcuların sürücüye yolculuk ile ilgili soru sormaları da sürücü için ekstra bir yoğunluk oluşturmaktadır. Tüm bu koşullar otobüs sürücülerinin davranışlarını etkilemektedir. Otobüs sürücülerinin yolculara veya trafikteki diğer sürücülere olan tutumları ise yolcu memnuniyetini önemli ölçüde etkilemektedir (Abenoza ve ark., 2017;

Cafiso ve ark., 2013). Sürücünün diğer bireylere davranışlarının yanı sıra yolculuk esnasında göstermiş olduğu davranışlar da yolcu memnuniyetini etkilemektedir. Özellikle güvenli bir yolculuk koşullarının oluşmaması önemli bir dezavantajdır. Sürücünün yüksek hızlara ulaşması ve trafik kurallarını ihlal etmesi gibi durumlar yolcu güvenliğini tehlikeye attığı için yolcu memnuniyeti düşük olmaktadır (Fellsson ve Friman, 2008; Varmazyar ve ark., 2018; Sam ve ark., 2018).

İlişkili Çalışmalar

Literatürde toplu taşıma araçlarında yolcu ve sürücü arasında meydana gelen tartışmaların sebep olduğu problemleri inceleyen çalışmalar yok denecek kadar azdır. Yapılan çalışmalar genel olarak toplu taşımada sürücü davranışının meydana getirdiği durumları ele almıştır. Örneğin Delice (2013) yaptığı çalışmada sürücülerini öfkeliendiren davranışları ve bu davranışlara verdikleri tepkileri incelemiştir. Toplu taşıma sürücülerini de kapsayan çalışmada anketlerden yararlanılmıştır. Anket verilerine istatistiksel testler uygulandığında sürücülerin diğer sürücü davranışlarına göre saldırganlıklarının arttıkları ortaya konmuştur. Mallia ve ark. (2015) otobüs şoförlerinin kişilik özelliklerinin sürüş ihlali, gecikme ve hatalara etkisini kişilik-tutum modeli kullanarak incelemiştir. İnceleme sonucunda trafikte fedakârlık, heyecan arayışı ve kural ihlali yapan sürücülerin trafik güvenliğini olumsuz etkilediği ortaya konmuştur. Useche (2017) ise otobüs şoförlerinin iş stresi ve yorgunluğunun sürüş davranışı üzerindeki etkilerini yapısal eşitlik modelleri kullanarak araştırmışlardır. Araştırmada, Kolombiya, Bogota'da 524 sürücü üzerinde anket yardımı ile inceleme yapmışlardır. Çalışma sonucunda çalışma koşullarına bağlı oluşan stres ve yorgunluğun sürüş güvenliğini riski hale getirdiği ortaya konmuştur. Murat ve Çakıcı (2017) ise bu alanda yaptıkları çalışmada toplu taşıma kullanımının artırılması ve özel araç kullanımının azaltılması amacıyla toplu taşımanın hizmet kalitesinin yeterliliğini araştırmışlardır. Toplu taşıma sistemlerindeki hizmet kalitesini araştırırken kamuoyu araştırması yapılmış ve konfor, frekans, bilgi sistemi ve ücret gibi parametrelerin öneminden bahsetmişlerdir.

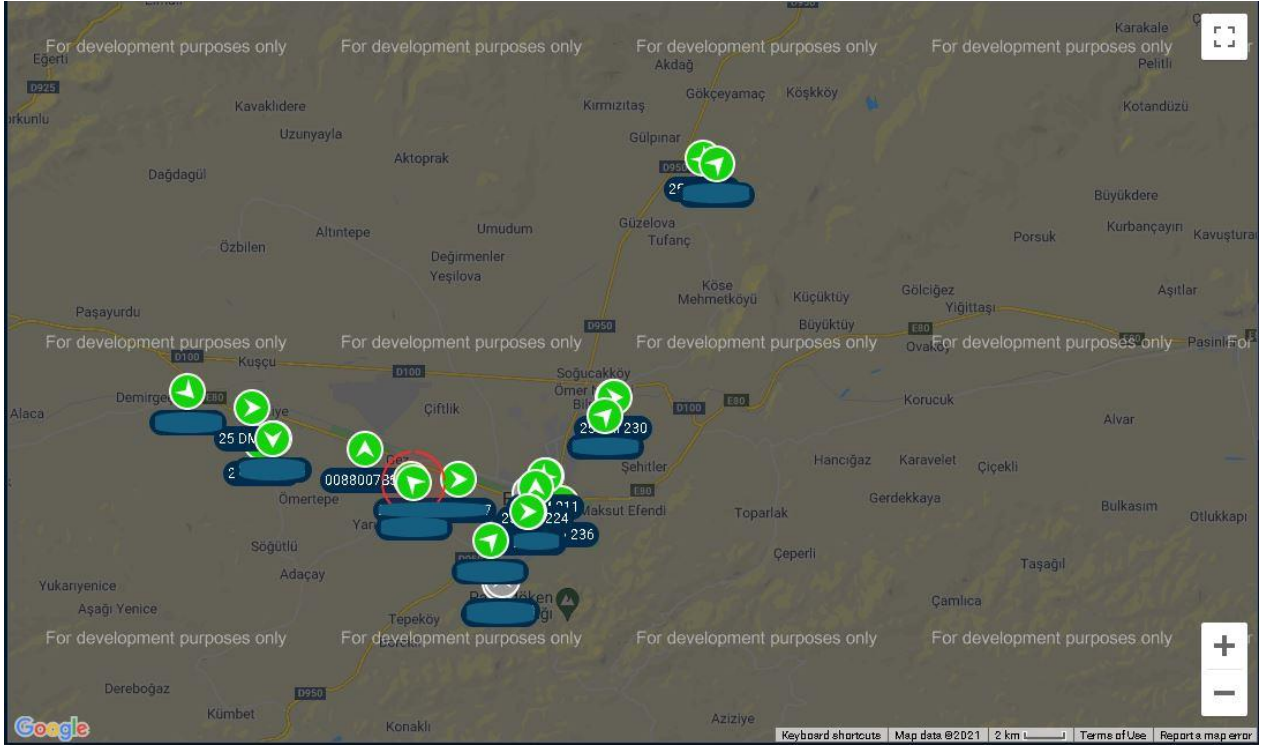
Toplu taşıma araçlarında meydana gelen problemleri incelemeye yönelik çalışmaların büyük bir kısmının anket verilerinden yararlanarak hazırlandığı görülmektedir. Literatürde toplu taşıma sürücüsü ile yolcular arasında meydana gelen tartışmaların kayıt altına alınarak daha gerçekçe sonuçlar ortaya koyan çalışmaların olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum da sorunların daha iyi şekilde incelenerek kalıcı çözümler sunulmasına engel olmaktadır. Yapılan bu çalışmada Erzurum ilinde son 3 yılda otobüs şoförleri ile yolcular arasında meydana gelen tartışmaların kameralar ile kayıt altına alındığı verilerden yararlanılmıştır. Son 3 yılda toplu taşıma araçlarında meydana gelen 1068 adet tartışma sebepleri ana başlıklara ayrılarak makine öğrenmesi algoritmaları ile sınıflandırılmıştır. En iyi performans sergileyen algoritmaya göre oluşan sınıf yoğunlukları incelenerek sürücü ile yolcu arasındaki tartışmaya sebep olan faktörler ortaya konmuştur. Daha sonra bu faktörler incelenerek çözüm önerileri sunulmuştur.

MATERYAL VE METOT

Çalışma Alanı

Çalışma alanı olan Erzurum kenti Türkiye'nin doğusunda yer almaktadır. Birbirinden farklı güzergâhlara sahip toplam 37 farklı otobüs hattı kent merkezinde ulaşım olanağı sağlamaktadır. Bu 37 otobüs hattında aktif olarak 214 adet otobüs çalışmaktadır. Bunlardan 75 tanesi belediye otobüsü olup 139 tanesi ise özel halk otobüsüdür. Tüm otobüslerin çeşitli bölgelerinde yer alan kameralar vasıtasıyla anlık olarak görüntü ve ses kayıtları izlenebilmektedir. Bu kayıtlar belediye bünyesinde yer alan ulaşım kontrol merkezindeki personeller tarafından incelenip meydana gelen problemler detayları ile birlikte raporlanmaktadır. Şekil 1'de otobüslerde yer alan kamera kayıtları, görüntülerin hangi plakalı araca ait olduğu ve otobüslerin anlık konumları gösterilmektedir.

Toplu Ulaşım Sistemlerinde Verimliliğin Artırılması Amacıyla Makine Öğrenmesi Yöntemlerinden Yararlanılması



a)



(b)

Şekil 1. a) Otobüslerin canlı olarak anlık konumları b) Otobüslerin çeşitli noktalarından kamera kayıtları (Erzurum Büyükşehir Belediyesi Ulaşım Daire Başkanlığı, 2021)

Veri İşleme

Erzurum Büyükşehir Belediyesi Ulaşım Daire Başkanlığındaki uydu takip birimi raporlarında; olumsuzluğun meydana geldiği zamanı, hangi plakalı araçta meydana geldiği, sürücünün ismi ve yolcu ile meydana gelen tartışmanın detaylarını kayıt altına almaktadırlar. Tespit edilen problem sürücü kaynaklı ise ilgili kurum tarafından çeşitli yaptırımlar da uygulanabilmektedir. Yolcu ile otobüs sürücüsü arasındaki tartışmalar ikiye ayrılmaktadır. Bu tartışmaların büyük bir kısmı sürücü kaynaklı olup bir kısmı ise yolcu kaynaklıdır. Yolcu ile sürücü arasında en sık meydana gelen problem türleri Çizelge 1'de yer almaktadır.

Çizelge 1. Toplu taşıma araçlarında en sık rastlanılan sürücü ve yolcu kaynaklı problemler

| Sürücü kaynaklı problemler | Yolcu kaynaklı problemler |
|--|--|
| 1. Taşıtı hızlı sürme | 1. Sürücüye sıkça soru sormak veya sürücüyü rahatsız etmek |
| 2. Durakta durmama | 2. Durak harici binme veya inme talebi |
| 3. Yolcuyu araca almama | 3. Ücret ödememe |
| 4. Kazaya sebep olma | 4. Diğer yolcuları rahatsız edici davranışlarda bulunmak |
| 5. Taşıtın kapısını kapatmama | 5. Otobüse zarar vermek |
| 6. Argo ifadeler kullanma | |
| 7. Trafik ışıklarına uymama | |
| 8. Taşıtı kullanırken telefonla konuşma veya sigara içme | |

Sürücü ve yolcu arasındaki tartışmaların büyük bir kısmı yukarıda belirtilen maddelere bağlı olarak meydana gelmektedir. Belirlenen bu 13 madde yolcu ile sürücü arasında meydana gelen toplam 1068 adet tartışmanın esas sebeplerini kapsamaktadır. Bu 13 sınıf oluştururken birbirine benzer özellikteki problemlerin aynı sınıf içerisinde yer alması amaçlanmıştır. Sürücü-yolcu tartışmalarına sebep olan maddeleri daha detaylı inceleyebilmek için tüm tartışmaların hangi sınıflarda yer aldıklarını ortaya koymak gereklidir. Çünkü toplu taşıma sistemleri kentlerin en önemli ulaşım yöntemlerinden birisidir (Özden ve ark. 2020). Toplu taşıma sistemlerindeki sürücü-yolcu etkileşimini ortaya koyabilmek için ise makine öğrenmesi algoritmalarından yararlanılmıştır. Makine öğrenmesi algoritmaları sayesinde veri kümesinin bir kısmı eğitilerek geriye kalan verilerin sınıflarının başarılı bir şekilde sınıflandırılması mümkündür. Bu sayede sınıflandırma işlemi daha pratik bir şekilde yapılmış olmaktadır.

Makine Öğrenmesi

Bir veri kümesinin daha iyi yorumlanabilmesi için çeşitli sınıflandırmalar yapılmaktadır. Yapılan sınıflandırmalar verilerin kolayca incelenmesi ve hızlı çözümler sunulabilmesi açısından oldukça faydalıdır. Sınıflandırma işlemlerinde ise yapay zekâ tabanlı yöntemler oldukça yüksek performanslar ortaya koymaktadır. Bunlardan bir tanesi olan makine öğrenmesi insanların öğrenme şekillerini taklit etmektedir. İstatistiksel yöntemler kullanarak sınıflandırma veya tahminler yapmaya olanak sağlamaktadır. Bu işlemin gerçekleşmesini sağlayan çeşitli algoritmaları bünyesinde barındırmaktadır. Her bir algoritma veri kümesini farklı türde analiz etmektedir. Veri kümesine en uygun algoritmayı tespit ederek daha doğru sonuçlar elde edebilmek mümkündür. Bu sebeple yapılan çalışmadaki veri kümesi farklı türden algoritmalar ile sınıflandırılmıştır.

Çalışmada naive bayes, regresyon, karar ağacı ve en yakın komşuluk algoritmaları kullanılmıştır. Naive bayes algoritması karmaşık olmayan verilerde hızlı ve başarılı sonuçlar verirken veriler karmaşıklaşınca hata oranı artabilmektedir. Regresyon algoritması ise bağımlı ve bağımsız değişkenler arasında ciddi ilişki varsa başarılı bir şekilde ortaya koyabilirken değişkenler arası ilişki karmaşık ise başarısı düşmektedir. Karar ağacı algoritması ise değişkenlerin etkileşimini başarılı bir şekilde ortaya koyabilirken hassas tahmin yapabilme yeteneği düşüktür. En yakın komşuluk algoritması ise çok sınıflı problemlerde başarılı olmakla birlikte veri seti fazla olduğunda başarısı düşebilmektedir.

Naive bayes

Naive bayes algoritmasında eğitim setinde öğretilmiş veriler sunulduktan sonra istatistiksel işlemler ile yeni test verilerinin hangi kategorilerde yer aldığı belirlenmeye çalışılır. Öğretilmiş veri sayısının fazlalığı algoritmanın daha başarılı sonuçlar vermesini sağlamaktadır. Naive Bayes algoritmasının çalışmasında Bayes teoremi kullanılır. Bayes teoremi 1 numaralı eşitlikte gösterilmektedir (Yıldırım ve Yüksel, 2017).

$$P(A/B) = (P(B/A) P(A)) / P(B) \quad (1)$$

$P(A/B)$: B olayı bilindiğinde A olayının gerçekleşme olasılığı

$P(B/A)$: A olayı bilindiğinde B olayının gerçekleşme olasılığı

$P(A)$: A olayının gerçekleşme olasılığı

$P(B)$: B olayının gerçekleşme olasılığı

Karar ağacı

Karar ağaçları çeşitli veri madenciliği konularında sıklıkla kullanılmaktadır. Önceden belirlenmiş bir hedef çıktıya sahiptirler. Bu algoritma, birçok özeliğe sahip olan bir veri kümesini farklı özelliklere sahip kriterlere göre kümelemeyebilmektedir. Karar ağacında en temel iki kavram olan entropi ve bilgi kazancı 2 ve 3 numaralı eşitlikler ile hesaplanmaktadır (Ülgen, 2017).

$$H = -\sum p(x) \log p(x) \quad (2)$$

$$Gain(S, D) = H(S) - \sum_{V \in D} \frac{|V|}{|S|} H(V) \quad (3)$$

$p(x)$: belirli bir sınıfa ait grubun yüzdesi

H: entropi

S: orijinal veri kümesi

D: kümenin bölünmüş parçası

V: S'nin bir alt kümesi

Gain: bilgi kazancı

K en yakın komşuluk

K en yakın komşuluk algoritması regresyon veya sınıflandırma işlemlerinde tercih edilebilmektedir. Algoritma sınıfları belli olan bir örnek kümesindeki verilerden yararlanarak yeni verilerin Öklid uzunluk hesaplama yöntemi ile hangi sınıf aralığında yer aldığını belirlemektedir. En yakın komşuluk algoritmasının en önemli avantajı modelini daha görülmemiş veri uyarlayabilmesidir. Yani bazı algoritmalarda eğitim sürecinde tüm verilerin gösterilmesi gerekirken bu algoritmada öyle bir zorunluluk yoktur. Bu yöntemde kullanılan hesaplama 4 numaralı eşitlikte verilmiştir (Özdemir, 2019).

$$d(i, j) = \sqrt{\sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2} \quad (4)$$

Burada, i ve j noktaları göstermekle birlikte $d(i, j)$ öklit uzaklığını ifade etmektedir.

Regresyon

Regresyon analizi, bir ya da daha fazla bağımsız değişken ile hedef değişken arasındaki ilişkiyi matematiksel olarak modelleyen bir yöntemdir. Regresyon, iki (ya da daha çok) değişken arasındaki doğrusal ilişkinin fonksiyonel şeklini, biri bağımlı diğeri bağımsız değişken olarak bir doğru denklemi olarak göstermekle kalmaz, değişkenlerden birinin değeri bilindiğinde diğeri hakkında kestirim yapılmasını sağlar. Regresyon modeli hesaplamasında 5 numaralı denklem kullanılır (Hui ve Jha 2000; Kuşkapan ve Çodur 2022).

$$y_i = \beta_0 + \sum_{j=1}^p X_{ij} \beta_j + \varepsilon_i \quad (5)$$

Burada; y_i bağımlı değişken parametrelerin bir doğrusal birleşimi olmak koşulu ile x_i bağımsız değişkenler, β_0 ve β_1 parametreler ve ε_i hata terimini ifade etmektedir (Mihăescu, 2011).

Algoritmaların performans analizi

Algoritmaların performans analizleri yapılırken kesinlik, duyarlılık, f-ölçütü ve hata ölçekleri hesaplanmaktadır. Hata ölçeklerinde ise genel olarak ortalama mutlak hata (MAE), kök hata kareler ortalaması (RMSE), Kappa istatistiği ve doğruluk değerleri esas alınmaktadır. Bu terimlerden kesinlik, duyarlılık, f-ölçütü ve doğruluk değerlerinin hesaplanmasında karışıklık matrisi kullanılmaktadır. Örnek bir karışıklık matrisi Şekil 2’de verilmiştir.

| KARIŞIKLIK MATRİSİ | | TAHMİN EDİLEN DEĞER | |
|--------------------|---------|------------------------|------------------------|
| | | Pozitif | Negatif |
| GERÇEK DEĞER | Pozitif | Doğru Pozitif (TP) | Yanlış Pozitif (FP) |
| | Negatif | Yanlış Negatif (FN) | Doğru Negatif (TN) |

Şekil 2. Karışıklık matrisi (Dinçer ve Özkan, 2023)

Karışıklık matrisinde TP (doğru pozitif-doğruya doğru demek), TN (doğru negatif-doğruya yanlış demek), FP (yanlış pozitif-yanlış doğru demek) ve FN (yanlış negatif-yanlış yanlış demek) değerleri kullanılmaktadır. Bu değerlerin kullanılması ile kesinlik, duyarlılık, f-ölçütü ve doğruluk kriterleri aşağıda verilen 6-7-8 denklemlerinde gösterildiği gibi hesaplanır. ROC değeri ise model performansının genel olarak yorumlanabilmesi için oluşturulan eğri ile elde edilmektedir. Bu performans değerlerinin hepsi 0 ile 1 arasında değerler almaktadır.

$$\text{Kesinlik} = \frac{TP}{TP+FP} \quad (6)$$

$$\text{Duyarlılık} = \frac{TP}{TP+FN} \quad (7)$$

$$F - \text{ölçütü} = \frac{2 \times \text{Duyarlılık} \times \text{Kesinlik}}{\text{Duyarlılık} + \text{Kesinlik}} \quad (8)$$

Veri madenciliğinde performans ölçütleri olan kesinlik, duyarlılık ve f-ölçütü değerlerinin yüksek olduğu algoritma daha doğru sınıflandırma yapmaktadır. Bununla birlikte hata ölçütleri olan Kappa istatistiği ve doğruluk değerlerinin yüksek MAE ve RMSE değerlerinin düşük olduğu algoritmaların da daha doğru sınıflandırma yaptığı bilinmektedir. MAE tüm veri öngörülen değerler ile ölçüm değeri arasındaki farkın ortalaması olarak ifade edilmektedir. RMSE değeri model tarafından tahmin edilen değerler ve elde edilen ölçüm değeri arasındaki farkın ortalamasının karekökü alınarak hesaplanır. Kappa değeri ise gözlemsel arasındaki uyumayı ölçmek için ifade edilen bir terimdir. Bu üç terimin hesaplanması şekli aşağıda 9-10-11 numaralı denklemlerde verilmiştir.

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |x_{f,i} - x_{o,i}| \quad (9)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_{f,i} - x_{o,i})^2} \quad (10)$$

$$K = \frac{p_o - p_e}{1 - p_e} \quad (11)$$

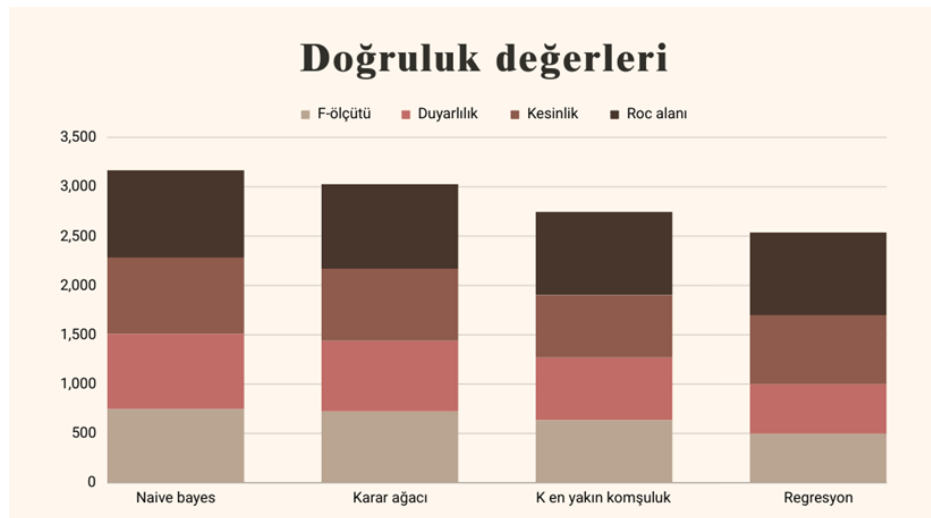
Burada $x_{f,i}$ ve $x_{o,i}$ sırasıyla beklenen ve gözlemlenen değerleri içermektedir. p_o gözlenen uyumluluk oranı, p_e tesadüfi uyumluluk oranı olmak üzere kappa istatistiği (K) formülüyle hesaplanmaktadır (Shatu ve ark., 2019). Kappa istatistik değerinin yorumlanması için Çizelge 2 kullanılmaktadır.

Çizelge 2. Kappa değerinin yorumlanması

| Kappa değeri | Uyuşma derecesi |
|--------------|----------------------------------|
| <0 | Hiç uyuşma olmaması |
| 0.01-0.20 | Önemsiz uyuşma olması |
| 0.21-0.40 | Orta derecede uyuşma olması |
| 0.41-0.60 | Ekseriyetle uyuşma olması |
| 0.61-0.80 | Önemli derecede uyuşma olması |
| 0.81-1.00 | Neredeyse mükemmel uyuşma olması |

BULGULAR VE TARTIŞMA

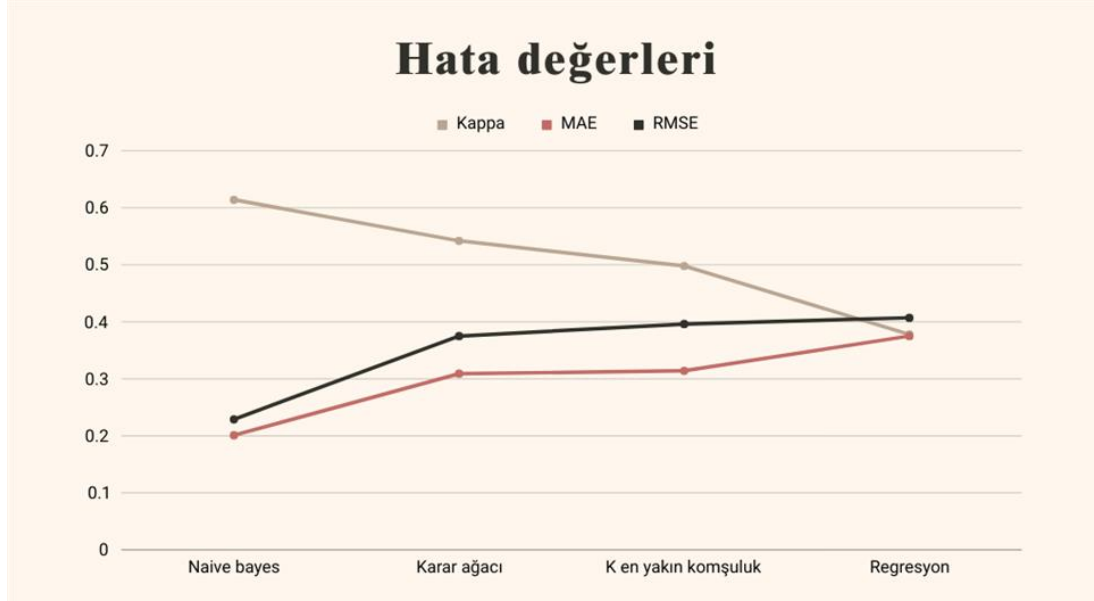
Toplu taşıma araçlarında meydana gelen tartışmalar sürücü ve yolcu kaynaklı olarak toplam 13 ana maddeye ayrılmıştır. Bu maddelerin her biri bir sınıfı temsil etmektedir. Toplu taşıma araçlarında meydana gelen toplam 1068 adet tartışma belirlenen bu 13 sınıftan oluşmaktadır. Belirlenen sınıflar için makine öğrenmesi algoritmaları olan Naive bayes, karar ağacı, k en yakın komşuluk ve regresyon yöntemleri kullanılmıştır. Her bir algoritma veri setini farklı yöntemlerle sınıflandırdığı için performans değerleri ve hata ölçekleri farklıdır. Mevcut veri setinin %70'i eğitim, %15'i doğrulama ve %15'i ise test için ayrılmıştır. Yolcu ile sürücü arasındaki tartışmalar sınıflandırıldığında en yüksek doğruluk değerlerine sahip algoritmanın daha başarılı olduğu söylenebilmektedir. Şekil 3'te her bir algoritmaya ait doğruluk değeri verilmiştir.



Şekil 3. Her bir algoritma ile elde edilen doğruluk değerleri

Doğruluk değerleri içerisinde her bir kavram farklı bir doğruluk ifadesi olsa da makine öğrenmesi için bu kavramlardan en belirleyici olan f- ölçütüdür. Diğer kavramlar tek başına bir algoritmanın başarısını ifade etmiyor olsa da her bir doğruluk değeri de birbirleri ile ilişkidir. Şekil 4'te verilen

sonuçlar incelendiğinde naive bayes algoritmasının hem f-ölçütü açısından hem de tüm doğruluk değerleri açısından en başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir. Başarılı bir algoritmada; doğruluk değerlerinin yüksek olmasının yanı sıra makine öğrenmesindeki hata değerleri olan kappa istatistik değerinin yüksek, MAE ve RMSE değerlerinin de düşük olması beklenmektedir. Eğer bir algoritma ile elde edilen doğruluk değerleri ile hata değerleri arasında uyuma yoksa bu algoritmanın mevcut veri kümesi için uygun olmadığı söylenebilir. Şekil 4'te her bir algoritma ile elde edilen hata değerleri yer almaktadır.



Şekil 4. Her bir algoritma ile elde edilen hata değerleri

Algoritmalarından elde edilen hata değerleri de incelendiğinde en düşük MAE ve RMSE, en yüksek kappa istatistik değerine sahip olan algoritmanın naive bayes algoritması olduğu görülmektedir. Öte yandan karar ağacı ve k en yakın komşuluk algoritmalarının MAE ve RMSE değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Regresyon algoritmasının ise doğruluk değerlerinde olduğu gibi hata değerlerinde de diğer algoritmalara göre daha az başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir. Hem doğruluk değerleri hem de hata değerleri birlikte incelendiğinde mevcut veri kümesi için naive bayes algoritmasının en başarılı performans ortaya koyduğu görülmektedir. Meydana gelen toplam 1068 problemin naive bayes algoritması ile yapılan sınıflandırmada yüzdelik olarak dağılımları Çizelge 3'te yer almaktadır.

Çizelge 3. Sürücü ve yolcu kaynaklı problemlerin meydana gelme sıklığı

| Problemin kaynağı | Tartışmaya sebep olacak içerik | Meydana gelme sayısı | Meydana gelme sıklığı (%) | |
|---|---|---|---------------------------|----|
| Sürücü | Taşıtı hızlı sürme | 139 | 13 | |
| | Durakta durmama | 75 | 7 | |
| | Yolcuyu araca almama | 64 | 6 | |
| | Kazaya sebep olma | 64 | 6 | |
| | Taşıtin kapısını kapatmama | 75 | 7 | |
| | Argo ifadeler kullanma | 96 | 9 | |
| | Trafik ışıklarına uymama | 117 | 11 | |
| | Taşıit kullanırken telefonla konuşma veya sigara içme | 128 | 12 | |
| | Yolcu | Sürücüye sıkça soru sormak veya sürücüyü rahatsız etmek | 117 | 11 |
| | | Durak harici binme veya inme talebi | 117 | 11 |
| Ücret ödememe | | 32 | 3 | |
| Diğer yolcuları rahatsız edici davranışlarda bulunmak | | 21 | 2 | |
| Otobüse zarar vermek | | 21 | 2 | |

Tartışmaya sebep olabilecek problemler incelendiğinde; sürücü kaynaklı problemler içerisinde trafik kurallarına uymama durumunun daha sıklıkla karşılaşıldığı görülmektedir. Bunlar içerisinde taşıtı hızlı sürme ve trafik ışıklarına uymama trafik kazalarına sebep olan temel unsurlar arasında yer almaktadır. Bunların haricinde ön plana çıkan bir diğer problem ise taşıt kullanırken telefonla konuşma veya sigara içme durumunun trafik kazasına sebep olma ihtimali daha düşükken yolcuları rahatsız edebilme durumu yüksektir. Yolcu kaynaklı problemlerde ise sürücüye sıkça soru sormak veya sürücüyü rahatsız etmek ile durak harici binme veya inme talebi öne çıkan problemler arasında yer almaktadır. Sürücüler günün önemli bir kısmını direksiyon başında geçirdikleri için normal bir insana göre daha yorgun veya sinirli olabilmesi mümkündür. Ayrıca sürüş esnasında çok fazla soru sorulması da dikkatini dağıttığı için bu durumlar tartışmalara sebep olabilmektedir. Öte yandan durak harici binme veya inme talebi de sürücüyü zor durumda bırakabileceği için bu duruma karşı gelmesi söz konusu olduğunda yolcu ile tartışmaların yaşanabilmesi mümkündür.

Toplu taşıma için yukarıda bahsedilen bu problemler birlikte değerlendirildiğinde çözüm önerisi olarak sürücülerin trafik kurallarına daha fazla riayet etmeleri hususunda yetkili kuruluşlar tarafından uyarıların yapılması, sürücüler için belirli zaman aralıkları ile bilgilendirici seminerlerin yapılması ve denetimlerin sağlanarak kurallara uyan sürücüler için ödüllendirilmeler yapılması sayesinde daha verimli sonuçlar elde edilebilecektir. Durum yaya özelinde değerlendirildiğinde ise mevcut durak noktalarında ve toplu taşıma mobil uygulamasında yeterli bilgilendirmenin sağlanması ve durak harici binme veya inme taleplerinde bulunmamaları hususunda çeşitli uyarıların yer alması sağlanırsa sürücü-yolcu tartışmalarının önemli bir kısmı engellenmiş olacaktır.

SONUÇ

Yapılan bu çalışmada toplu taşıma sürücülerini ile yolcular arasında meydana gelen tartışmalara sebep olabilecek problemler yolcu ve sürücü kaynaklı olmak üzere iki ana kısma ayrılmıştır. Erzurum ilinde son üç yılda meydana gelen toplam 1068 adet sürücü-yolcu tartışmaları için 13 farklı sınıf belirlenmiştir. Meydana gelen tüm tartışmaların hangi sınıflara ait olduğunu belirleyebilmek için ise makine öğrenmesi algoritmalarından yararlanılmıştır. Mevcut veri seti için eğitim setinde sınıflar öğretilerek test veri setinde sınıflandırmaların tahminleri elde edilmiştir. Eğitim veri seti içinde naive bayes, k en yakın komşuluk, karar ağacı ve regresyon algoritmaları içerisinde %81 f-ölçütü değeri ile en başarılı algoritma olarak naive bayes algoritması ön plana çıkmıştır. Bu algoritma ile geriye kalan verilerin de sınıflandırması yapıldığında sürücü kaynaklı problemler içerisinde trafik kurallarına uymama durumunun yani taşıtı hızlı sürme ve trafik ışıklarına uymama durumlarının en yaygın problemler olduğu belirlenmiştir. Yolcu kaynaklı problemlerde ise sürücüye sıkça soru sormak veya sürücüyü rahatsız etmek ile durak harici binme veya inme talebi öne çıkan problemler arasında yer aldığı tespit edilmiştir. Bu öne çıkan problemleri azaltabilmek için ise öncelikle sürücüler için trafik kurallarına uymaları yönünde bilgilendirmelerin yapılmasının yanında kural ihlali yapmayan sürücüler için ödüllendirmeler sağlanabilmesi önerilmektedir. Yolculardan kaynaklı problemlerin önüne geçebilmek için ise durak yerleri ve mobil uygulamada yolcu bilgilendirme sisteminin daha başarılı şekilde sağlanmasının yanında durak harici inme ve binme taleplerinin bulunulmaması hususunda yolcuların uyarılması önerilmiştir. Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar ve yorumlamalar dikkate alındığı taktirde kentlerde toplu ulaşımın daha verimli şekilde sağlanabilmesi mümkündür.

Çıkar Çatışması

Yazar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Abenoza, R. F., Cats, O., & Susilo, Y. O. (2017). Travel satisfaction with public transport: Determinants, user classes, regional disparities and their evolution. *Transportation Research Part A: Policy and Practice*, 95, 64-84.
- Cafiso, S., Di Graziano, A. ve Pappalardo, G. (2013). Using the Delphi method to evaluate opinions of public transport managers on bus safety. *Safety science*, 57, 254-263.
- Chhabra, R., Verma, S. ve Krishna, C. R. (2017). A survey on driver behavior detection techniques for intelligent transportation systems. In *2017 7th International Conference on Cloud Computing, Data Science & Engineering-Confluence* (s. 36-41). Noida, India. Erişim adresi: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7943120>
- Delice, M. (2013). Sürücüyü Öfkeliendiren Davranışların ve Sürücülerin Bu Davranışlara Verdiği Tepkilerin İncelenmesi/The Investigation of Factors Causing Anger on Drivers and the Drivers' Response Against These Factors. *Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 17(2).
- Demircioğlu, A., Baş, S. S. ve Uysal, S. A. (2019). Farklı tipte araç kullanan sürücülerde ağrı, yorgunluk, uyku ve yaşam kalitesinin karşılaştırılması. *Journal of Exercise Therapy and Rehabilitation*, 6(2), 104-111.
- Dinçer, Y., Özkan, İ. (2023). Çevresel seslerin evrimsel sinir ağları ile sınıflandırılması. *Konya Journal of Engineering Sciences*, 11(2), 468-490.
- Erzurum Büyükşehir Belediyesi Ulaşım Daire Başkanlığı. (2021). Toplu taşıma kontrol merkezi. Erişim adresi: <https://ulasim.erzurum.bel.tr/>.
- Farooq, D. ve Moslem, S. (2019). A fuzzy dynamical approach for examining driver behavior criteria related to road safety. In *2019 smart city symposium Prague (SCSP)* (s. 1-7). Prague, Czech Republic. Erişim adresi: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8805741>
- Farooq, D. ve Moslem, S. (2020). Evaluation and ranking of driver behavior factors related to road safety by applying analytic network process. *Periodica Polytechnica Transportation Engineering*, 48(2), 189-195.
- Fellessen, M. ve Friman, M. (2008). Perceived satisfaction with public transport service in nine European cities. In *Journal of the Transportation Research Forum* (s. 92-102). Erişim adresi: <http://www.trforum.org/journal>
- Hamarat, B. ve Duran, E. (2020). The factors affecting the drivers offensive behavior in the traffic: case of Çanakkale. *Journal of Awareness*, 5(4), 501.
- Haque, M. M., Oviedo-Trespalacios, O., Sharma, A., ve Zheng, Z. (2021). Examining the driver-pedestrian interaction at pedestrian crossings in the connected environment: A Hazard-based duration modelling approach. *Transportation research part A: policy and practice*, 150, 33-48.
- Hui, S. ve Jha, G. (2000). Application data mining for customer service support. *Information and Management*, 38, 1-13.
- Jomnonkwao, S., Utra, S. ve Ratanavaraha, V. (2021). Analysis of a driving behavior measurement model using a modified driver behavior questionnaire encompassing texting, social media use, and drug and alcohol consumption. *Transportation research interdisciplinary perspectives*, 9, 100302.
- Kuşkapan, E. ve Çodur, M. Y. (2022). Trafik kazalarının sınıflandırılmasında çok katmanlı algılayıcı, regresyon ve en yakın komşuluk algoritmalarının performans analizi. *Politeknik Dergisi*, 25(1), 373-380.

- Mallia, L., Lazuras, L., Violani, C. ve Lucidi, F. (2015). Crash risk and aberrant driving behaviors among bus drivers: the role of personality and attitudes towards traffic safety. *Accident Analysis & Prevention*, 79, 145-151.
- Mihăescu, M. C. (2011). Classification of learners using linear regression. In *2011 federated conference on computer science and information systems (FedCSIS)* (s. 717-721). Szczecin, Poland. Erişim adresi: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6078214>
- Murat, Y. S. ve Cakici, Z. (2017). Comparative Analysis of Public Transport Users' Perception Targeting Sustainable Transportation. In *Engineering Tools and Solutions for Sustainable Transportation Planning*, 76-98, IGI Global.
- Özdemir, K. (2019). K-En Yakın Komşu Algoritması. Erişim adresi: <https://medium.com/batech/k-en-yakin-komşu-algoritması>
- Özden, A., Akalın, B. ve Çağdaş, K. (2020). ITS Applications in Public Transportation: What Municipalities Offer to Travelers in Turkey. *Journal of Transportation and Logistics*, 4(2), 51-64.
- Rosenberger, R. (2019). The experiential niche: Or, on the difference between smartphone and passenger driver distraction. *Philosophy & Technology*, 32(2), 303-320.
- Sam, E. F., Brijs, K., Daniels, S., Brijs, T. ve Wets, G. (2018). Public bus passenger safety evaluations in Ghana: A phenomenological constructivist exploration. *Transportation research part F: traffic psychology and behaviour*, 58, 339-350.
- Seth, I. (2020). A survey on driver behavior detection techniques. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 7, 401-404.
- Shatu, F., Yigitcanlar, T. ve Bunker, J. (2019). Objective vs. subjective measures of street environments in pedestrian route choice behaviour: Discrepancy and correlates of non-concordance. *Transportation research part A: policy and practice*, 126, 1-23.
- Tronsmoen, T. (2010). Associations between driver training, determinants of risky driving behaviour and crash involvement. *Safety Science*, 48(1), 35-45.
- Useche, S. A., Ortiz, V. G. ve Cendales, B. E. (2017). Stress-related psychosocial factors at work, fatigue, and risky driving behavior in bus rapid transport (BRT) drivers. *Accident Analysis & Prevention*, 104, 106-114.
- Ülgen, E. K. (2017). Makine Öğrenimi Bölüm-5 (Karar Ağaçları). Erişim adresi: <https://medium.com/@k.ulgen90/>
- Varmazyar, S., Mortazavi, S. B., Arghami, S. H. ve Hajizadeh, E. (2014). Factor analysis of driver behavior questionnaire (DBQ) in public transportation Bus Company: Investigation of the relationship between DBQ factors and crashes. *Scientific Journal of Review*, 3(4), 155-165.
- Yıldırım, M., ve Yüksel, C. A. (2017). Sosyal medya ile hisse senedi fiyatının günlük hareket yönü arasındaki ilişkinin incelenmesi: Duygu analizi uygulaması. *Uluslararası İktisadi ve İdari İncelemeler Dergisi*, 33-44.

Atf İçin: Turan, A. I., Ayaz, Y., Yalciner, H., Kumbasaroglu, A. ve Celik, A. (2024). Hızlandırılmış Korozyon Yöntemiyle Paslandırılan Betonarme Çerçeve Sistemlerinin Moment-Taşıma Kapasitelerinin Deneysel ve Analitik İncelenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 755-772.

To Cite: Turan, A. I., Ayaz, Y., Yalciner, H., Kumbasaroglu, A. & Celik, A. (2024). Experimental and Analytical Investigation of Moment-Carrying Capacities of Reinforced Concrete Frame Systems Corroded by Accelerated Corrosion Method. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 755-772.

Hızlandırılmış Korozyon Yöntemiyle Paslandırılan Betonarme Çerçeve Sistemlerinin Moment-Taşıma Kapasitelerinin Deneysel ve Analitik İncelenmesi

Ahmet İhsan TURAN^{1*}, Yaşar AYZAZ², Hakan YALÇINER¹, Atila KUMBASAROĞLU¹, Alper ÇELİK¹

Öne Çıkanlar:

- Korozyon enerji tüketme kapasitesini azaltmaktadır
- Donatı korozyonu moment kapasitesini azaltmaktadır
- Kesit analizi moment değerlerini yüksek oranda tahmin edebilmektedir

ÖZET:

Türkiye’de son 25 yılda yaşanan yıkıcı depremlerin ardından yapılan teknik incelemeler, betonarme yapılarda meydana gelen hasarların ana sebeplerinden birinin de donatı korozyonu olduğunu vurgulamaktadır. Donatı korozyonunun betonarme elemanlarda meydana getirdiği bozulmalar, yapının performans seviyesini tanımlayan süneklik, rijitlik, aderans-donatı sıyrılması ilişkisi, taşıma gücü ve enerji yutma kapasitesi gibi parametrelerin azalmasına sebep olmaktadır. Bu bağlamda olası bir sismik hareketlilik yaşanmadan korozyona maruz kalmış betonarme yapıların belirtilen bu performans seviyelerinin tespit edilmesi can ve mal kayıplarının önüne geçilmesi açısından büyük öneme sahiptir. Betonarme yapılarda taşıyıcı eleman davranışını, kesit davranışı yansıtmaktadır. Kesit davranışının doğru bir şekilde tespit edilebilmesi için de Moment-Eğrilik ilişkisinin tanımlanması gerekmektedir. Gerçekleştirilen çalışma ile birlikte korozyona maruz bırakılmış betonarme çerçevelerin yapısal davranışları deneysel ve analitik olarak incelenmiştir. Bu kapsamda üretilen 5 adet betonarme çerçeve numunesinden 4 adedi hızlandırılmış korozyon yöntemiyle farklı oranlarda paslandırılmıştır. Korozyon sürecinin tamamlanmasının ardından, çalışmanın deneysel bölümünde tüm numuneler %20 eksenel ve tersinir-tekrarlanır yanal yük altında deneye tabi tutulmuştur. Analitik çalışmada, korozyon etkisiyle değişen malzeme-mekanik özellikleri dikkate alınarak gerçekleştirilen kesit analizleri sonucunda, hesap edilen moment değerlerinin deneysel olarak ölçülen moment değerleriyle yüksek oranda uyum gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler:

- Korozyon
- Kesit analizi
- Betonarme çerçeve
- Çevrimsel yüklem
- Moment-eğrilik ilişkisi

Experimental and Analytical Investigation of Moment-Carrying Capacities of Reinforced Concrete Frame Systems Corroded by Accelerated Corrosion Method

Highlights:

- Corrosion reduces the energy absorption capacity
- Reinforcement bar corrosion reduces moment capacity
- Section analysis can predict moment values to a high degree

ABSTRACT:

Technical investigations carried out after the devastating earthquakes in Turkey in the last 25 years show that one of the main causes of damage to reinforced concrete structures is reinforcement bar corrosion. The deterioration caused by reinforcement corrosion in reinforced concrete elements reduces the parameters that define the performance level of the structure, such as ductility, stiffness, bond-slip relationship, load carrying capacity, and energy absorption capacity. Therefore, determining the specified performance levels of reinforced concrete structures exposed to corrosion before any seismic activity occurs is of great importance in preventing loss of life and property. Cross-section behavior in reinforced concrete structures represents the load-bearing element behavior. In order to accurately determine the section behavior, the Moment-Curvature relationship must be defined. In this study, the structural behavior of reinforced concrete frames exposed to corrosion was examined experimentally and analytically. For this purpose, 4 of the 5 reinforced concrete frame specimens constructed were corroded at different ratios using the accelerated corrosion method. After the corrosion process was completed, in the experimental part of the study, all specimens were tested under the effect of a 20% constant axial load and reversal-cyclic loading. In the analytical study, as a result of the cross-sectional analyzes carried out by taking into account the material-mechanical properties changing with the effect of corrosion, it was determined that the calculated moment values were in high predicted with the experimentally measured moment values.

Keywords:

- Corrosion
- Section analysis
- Rc frames
- Cyclic load
- Moment-curvature relationship

¹Ahmet İhsan TURAN ([Orcid ID: 0000-0003-4865-6490](https://orcid.org/0000-0003-4865-6490)), Hakan YALÇINER ([Orcid ID: 0000-0002-7289-3384](https://orcid.org/0000-0002-7289-3384)), Atila KUMBASAROĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-6338-4553](https://orcid.org/0000-0002-6338-4553)), Alper ÇELİK ([Orcid ID: 0000-0003-3816-680X](https://orcid.org/0000-0003-3816-680X)). Erzincan Binali Yıldırım University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Civil Engineering, Erzincan, Türkiye

² Yaşar AYZAZ ([Orcid ID: 0000-0002-1089-0700](https://orcid.org/0000-0002-1089-0700)), İnönü University, Faculty of Engineering, Department of Civil Engineering, Malatya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ahmet İhsan TURAN, e-mail: ahmet.turan@erzincan.edu.tr

This study was produced from Ahmet İhsan Turan's PhD thesis.

INTRODUCTION

Earthquakes in Turkey in the last 25 years have caused thousands of deaths and property losses. In the reports and publications performed as a result of instrumental and observational investigations following these devastating earthquakes, the reasons for heavy damage or wholesale collapse of reinforced concrete structures are explained as insufficient concrete compressive strength (Erdik et al., 1992; Tezcan & Ipek, 1996; Lockner et al., 2000; Cagatay et al., 2005; Sengel & Dogan, 2013), reinforcement bar corrosion (Wasti et al., 2001; Kaplan et al., 2004; Binici, 2007; Mondal & Rai, 2008; Akiyama et al., 2013), design errors, workmanship defects, and ground-related situations. In the earthquake regulations that have been developed and entered into force in Turkey since 1975, improvements have been made in the limit values of concrete and reinforcement bar material properties that are allowed to be used in reinforced concrete structures. For example, the lowest compressive strength allowed to be used in reinforced concrete structures is C14 concrete class and C18 concrete class in 1975 ABYYHY (Regulation on Structures to be Built in Disaster Areas) (ABYYHY, 1975), C16 concrete class and C20 concrete class in 1998 ABYYHY (ABYYHY, 1998), and at least C25 concrete class in all structures in TBDY 2018 (Turkish Building Earthquake Regulation) (TBDY, 2018), which is the current regulation whose use has been made mandatory.

Especially considering the structures constructed before 2000, the fact that the regulation requirements remain within certain limits and the use of ready-mixed concrete has not become widespread has made it inevitable for reinforced concrete structures to be constructed with low concrete compressive strength. Reinforcement bar corrosion is commonly seen in reinforced concrete structures with low concrete compressive strength due to permeability problems. Section area losses that occur as a result of reinforcement bar corrosion cause decreases in the bond strength between the reinforcement and concrete. Thus, the structure cause to move away from the performance levels that affect the required boundary conditions under earthquake loads, such as sufficient ductility, sufficient rigidity, and sufficient strength targeted at the design stage (Yalciner et al., 2019; Yalciner et al., 2019; Celik et al., 2020; Yalciner & Kumbasaroglu, 2020; Yalciner et al., 2020; Yalciner & Kumbasaroglu, 2022; Celik et al., 2022). Determining the effects of these parameters, which change as a result of corrosion, on an element and cross-section basis using the moment-curvature relationship obtained from non-linear cross-section analyses is important for determining the performance levels of reinforced concrete structures exposed to corrosion. Considering the current literature, nonlinear section analysis have generally been carried out by taking into account different section types (Caglar et al., 2015; Dok et al., 2017; Cheng et al., 2019), corrosion mechanisms (Zhang et al., 2018), axial load values (Yüksel & Foroughi, 2020), and material properties (Sheikh et al., 2010). For this purpose, in the nonlinear cross-section analyzes carried out in the current research, the deteriorations in the mechanical properties of concrete and reinforcement materials as a result of corrosion effects were calculated with models in the literature and reflected in the analyses. In this context, the XTRACT section analysis program was used to obtain section moment curvature relationships.

MATERIALS AND METHODS

Material and Section Properties

Within the scope of the study, a total of 5 reinforced concrete frame specimens were constructed, including 1 reference with 26 MPa concrete compressive strength and 4 exposed to different ratios of corrosion. The reinforcement and section properties of the test specimens are shown in Figure 1. The column and beam cross-sections of the reinforced concrete frame specimens were dimensioned as 30×30

cm, and the foundation cross-section was dimensioned as 30×40 cm. The net column height of the test specimen, from the upper foundation elevation of the column elements to the lower beam elevation, is 150 cm. The reinforcement cages of the column elements forming the reinforced concrete frames consist of 6 pieces of 14 mm diameter longitudinal reinforcement bar, and the beam elements consist of 5 pieces of 14 mm diameter longitudinal reinforcement bar. Stirrups with an 8 mm reinforcement diameter were placed at 10 cm intervals, and the reinforcement arrangement was produced according to TS-500 (2000). The concrete cover depth used for the RC frames was 30 mm.

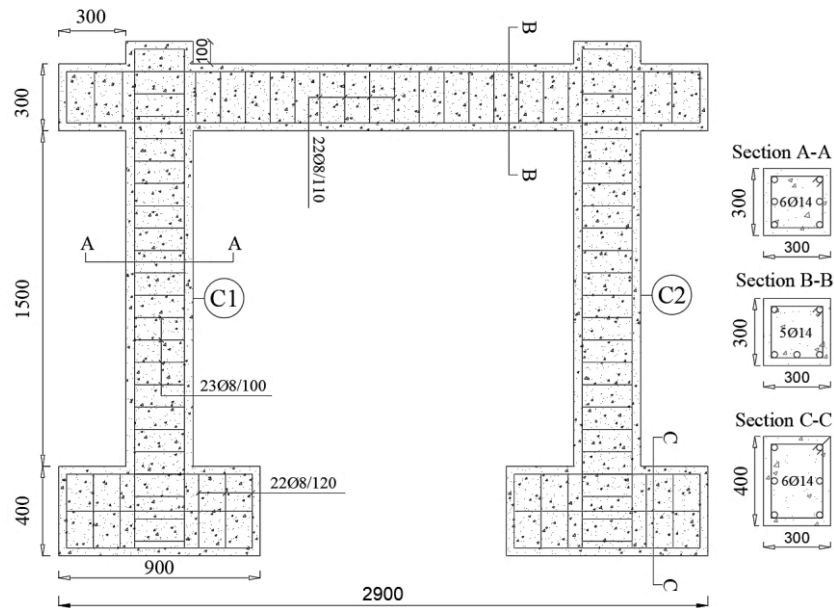


Figure 1. Section properties and detailing of reinforcement bar of the RC frame

Accelerated Corrosion Method

Before the accelerated corrosion process, all longitudinal and stirrups were weighed on a 0.5 g precision scale with a two-point load cell and their initial masses were recorded. Before pouring concrete, as seen in Figure 2, all reinforcements were equipped with 4 mm diameter copper wires in order to ensure a homogeneous current flow in the reinforcements. In order to prevent support problems that may occur due to corrosion of the foundation area of the test sample, the foundation reinforcements were insulated against corrosion. This application aims to prevent deterioration in the mechanical properties of the concrete and reinforcement of the foundation area.



Figure 2. Copper wires used for reinforcement bars (a) Copper wires for longitudinal bars (b) Copper wires used for stirrups, (c) insulation for foundation

For the corrosion tests carried out within the scope of the study, a full-scale reinforced concrete corrosion pool was constructed. Figure 3 shows the front and top view of the corrosion pool.

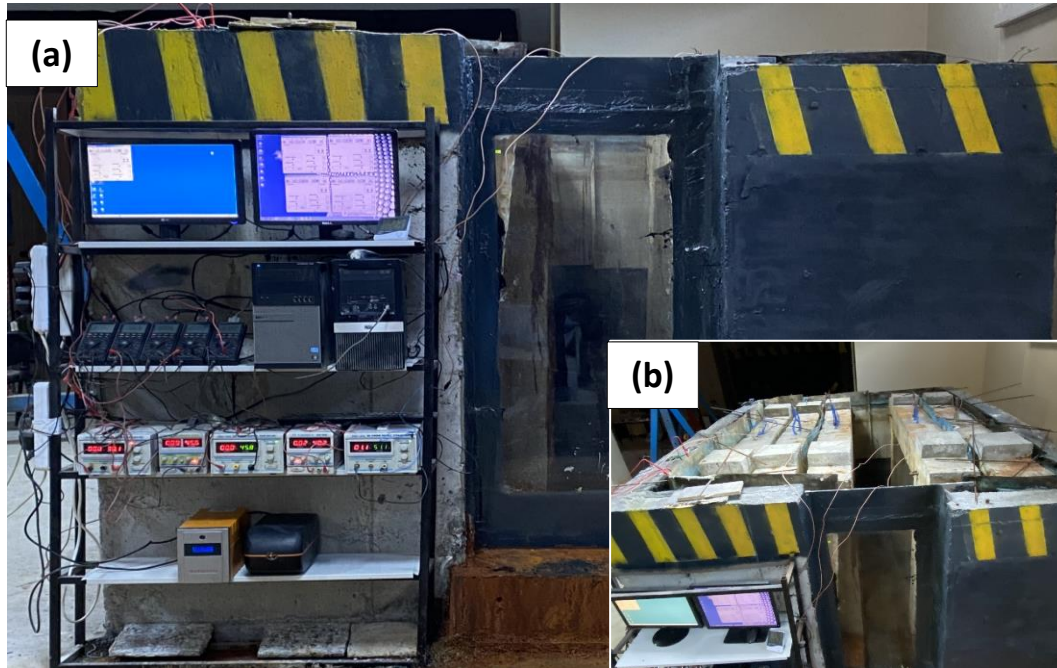


Figure 3. Accelerated corrosion test setup

A power supply with 60 V 0–10 A power, shown in Figure 3, were used to corroded the test specimens. As seen in Figure 3, copper wires extended from the longitudinal reinforcement are connected to the positive terminal of the power supplies to serve as an anode. The cathode circuit element of the accelerated corrosion process is the copper plates surrounding the inner surface of the pool. A digital voltmeter was connected to the system in order to record the current passing through the system in a controlled manner. Faraday's Law, expressed in Equation 1, was used to monitor whether theoretically designed corrosion ratios were reached.

$$mass\ loss = \frac{t(s) \times I(A) \times 55.847}{2 \times 96,487} \quad (1)$$

Where $t(s)$ is the time and $I(A)$ is the current. The actual corrosion ratio for each specimen was calculated by Eq. (1). As previously mentioned, Faraday's Law has only been used to monitor designed corrosion levels. Actual corrosion levels were obtained by breaking the test specimens after the loading tests, removing all longitudinal bars and stirrups, and reweighing according to Equation 2:

$$C_L = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (2)$$

Where m_i , is the original mass of the reinforcement before the corrosion process and m_f , is the mass of the reinforcement after the corrosion products have been removed by the mechanical cleaning process. The average loss in cross-sectional areas of longitudinal reinforcement (ΔA_s) was calculated using Equation 3:

$$\Delta A_s = A_s \times \frac{\Delta m}{m} \quad (3)$$

Where ΔA_s , is the reinforcement area loss in the cross-section (mm^2), A_s is the cross-sectional area of one non corroded reinforcement bar (mm^2) and Δm , is the mass loss per unit length (g/mm) calculated using Equation 4.

$$\Delta m = m - m' \quad (4)$$

Where m and m' are the mass per unit length of non-corroded and corroded reinforcement, respectively (g/mm).

Loading and Measurement Setup

Figure 4 shows the experimental setup designed for corrosion. In reversible lateral cyclic loading experiments, axial loading was applied with two hydraulic pistons with a capacity of 1000 kN fixed on articulated steel plates that were strongly connected to the hard ground with steel bolts. Hydraulic pistons were fixed to the upper steel beam of sufficient length and placed symmetrically on the steel loading beam, welded together at the column ends of the reinforced concrete frame specimen. Thus, axial loading was provided from a single point, with the upper steel beam placed perpendicular to the reinforced concrete frame specimens. The lower loading steel beam placed parallel to the reinforced concrete frame specimens distributed the single load equally to both columns.

As seen in Figure 4, a hydraulic piston with a capacity of 600 kN, fixed to the reaction wall with articulated steel plates, was used for lateral cyclic loading. In order to record the measured values nominally, a 1000 kN load cell was placed by connecting it to the end of the hydraulic piston. Lateral displacements were measured using the LVDT placed on a steel pier anchored to the ground, independent of the specimens at the end of the reinforced concrete frame beam at the applied horizontal load level. In Figure 4, 1- hydraulic piston (600 kN) and load cell (1000 kN) 2- hydraulic piston (1000 kN) 3- steel bolt 4- steel beam 5- anchor to the reaction wall 6- steel bundle 7- reinforced concrete reaction wall 8 - foundation anchor bolts 9- potentiometer (200 mm) 10- represents the test sample.

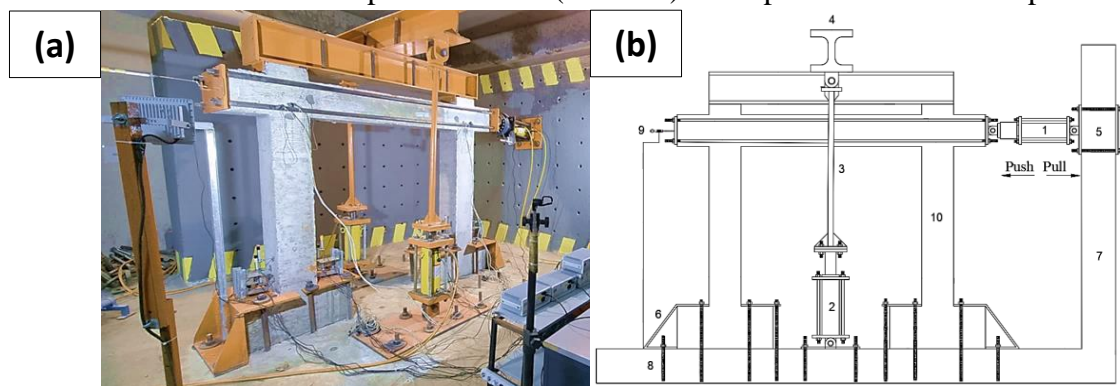


Figure 4. Test setup for loading

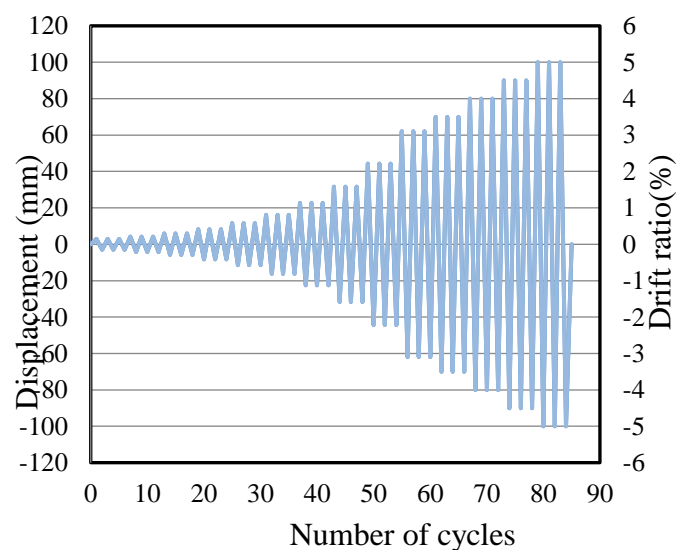


Figure 5 : Loading history program

FEMA 461 (2007) protocol was taken into account in the experiments performed with reversible repetition and displacement control. In the loading protocol considered, 3 cycles were performed for each amplitude. Figure 5 shows the loading history program.

Analytical Study

Concrete model

In the section analyzes carried out within the scope of the analytical study, the stress-strain relationship of confined and unconfined concrete was created according to the concrete model defined in TBEC 2018. Figure 6 shows the parameters taken into account in the confined and unconfined concrete model.

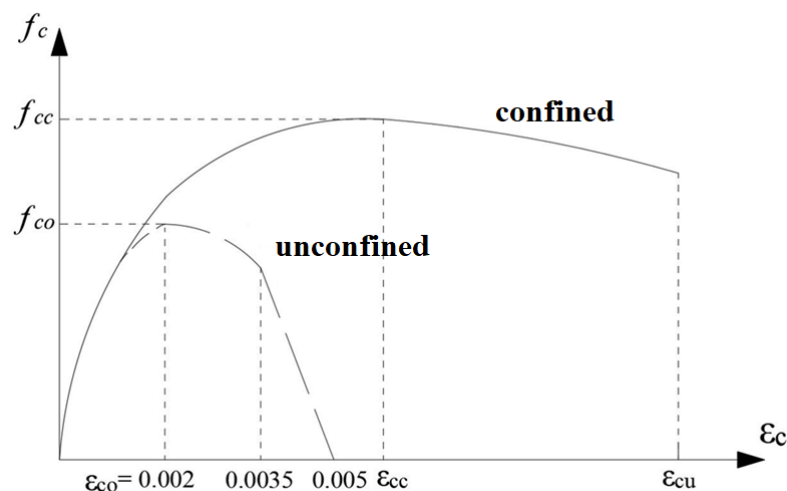


Figure 6 : Stress-strain relationship of the confined and unconfined concretes

The compressive stress in the confined concrete f_c , is calculated as a function of the compressive strain of concrete ε_c by Equation 5.

$$f_c = \frac{f_{cc} x^r}{r-1+x^r} \quad (5)$$

In Equation 5 f_{cc} , is the confined concrete's strength, x is the strain-dependent variable and r is the elasticity modulus-dependent variable. The relationship between the confined concrete's strength f_{cc} and the unconfined concrete's strength f_{co} is given in Equation 6.

$$f_{cc} = \lambda_c f_{co} \quad (6)$$

$$\lambda_c = 2.254 \sqrt{1 + 7.94 \frac{f_e}{f_{co}}} - 2 \frac{f_e}{f_{co}} - 1.254 \quad (7)$$

In Equation 7, f_e is the effective confining pressure. The effective confining pressure is calculated as the mean of the values given in Equation 8 for two perpendicular directions in rectangular sections.

$$f_{ex} = k_e \rho_x f_{yw}, \quad f_{ey} = k_e \rho_y f_{yw}, \quad f_e = (f_{ey} + f_{ex})/2 \quad (8)$$

In Equation 8, k_e , is the confining effectiveness coefficient, ρ_x and ρ_y , are the volume fraction of stirrups in the respective directions, and f_{yw} , is the yield strength of the stirrups. The confining effectiveness coefficient k_e is calculated by Equation 9.

$$k_e = \left(1 - \frac{\sum a_i^2}{6b_o h_o}\right) \left(1 - \frac{s}{2b_o}\right) \left(1 - \frac{s}{2h_o}\right) \left(1 - \frac{A_s}{b_o h_o}\right)^{-1} \quad (9)$$

In Equation 9, a_i is the distance between the axes of the vertical reinforcements around the section, b_o and h_o are the section dimensions between the axes of the stirrups confining the core concrete, s is

the stirrup spacing, and A_s is the longitudinal reinforcement area. The relations for the normalized concrete strain x and r in Equation 2 are given in Equation 10 and Equation 11, respectively.

$$x = \frac{\varepsilon_c}{\varepsilon_{cc}} \quad , \quad \varepsilon_{cc} = \varepsilon_{co}[1+5(\lambda_c-1)] \quad , \quad \varepsilon_{co} \approx 0.002 \quad (10)$$

$$r = \frac{E_c}{E_c - E_{sec}} \quad , \quad E_c \approx 5000\sqrt{f_{co}} \quad , \quad E_{sec} = \frac{f_{cc}}{\varepsilon_{cc}} \quad (11)$$

The maximum strain ε_{cu} in the confined concrete is calculated by Equation 12.

$$\varepsilon_{cu} = 0.035 + \frac{1.4 \rho_s f_{yw} \varepsilon_{su}}{f_{cc}} \quad (12)$$

A different approach was adopted in the formation of confined and unconfined concrete models to be used in the analysis of reinforced concrete column sections subjected to corrosion. The reduced compressive strength of the unconfined concrete in the section due to reinforcement corrosion was calculated according to the model proposed by Vecchio and Collins (1986) using the primary corrosion crack widths measured on the reinforced concrete frames (Equation 13).

$$f_c^* = \frac{f_c}{1 + K \varepsilon_1 / \varepsilon_{co}} \quad (13)$$

In Equation 13, f_c^* is the reduced compressive strength of the unconfined concrete due to corrosion, f_c is the compressive strength of the concrete before corrosion, K is a coefficient dependent on reinforcement diameter and roughness [Cape (1999) suggested 0.1 for deformed reinforced concrete reinforcements], ε_{co} is the strain corresponding to the maximum compressive strength, and ε_1 is the average strain in cracked concrete in the direction perpendicular to the compression direction. ε_1 is calculated by Equation 14.

$$\varepsilon_1 = (b_f - b_o) / b_o \quad (14)$$

In Equation 14, b_o is the section width before corrosion cracking and b_f is the total section width increased due to corrosion cracking. The average strain in cracked concrete ε_1 was calculated using the average primary corrosion crack widths W_{cr} measured on corroded reinforced concrete column specimens in the experimental section of the study. Table 1 shows the average primary corrosion crack widths measured along the height of the reinforced concrete frame specimens.

Decreases in compressive strength due to cracks occurring as a result of corrosion in the unconfined concrete were calculated. Considering the average section losses in the coiled reinforcement due to corrosion, the reinforcement ratios in Equation 4 were calculated for each sample and a confined concrete model was created for reinforced concrete sections exposed to corrosion.

The confined and unconfined concrete models used in for the reinforced concrete column sections subjected to corrosion are shown in Figure 7.

Table 1. Average initial corrosion crack widths

| Specimen | | CL _L (%) | CL _s (%) | W _{cr} (mm) |
|----------|-------|---------------------|---------------------|----------------------|
| RCF1 | Left | 11.3 | 4.9 | 0.28 |
| | Right | 12.8 | 4.1 | 0.34 |
| RCF2 | Left | 17.3 | 4.6 | 0.37 |
| | Right | 14.6 | 4.1 | 0.35 |
| RCF3 | Left | 22.3 | 12.2 | 0.44 |
| | Right | 20.6 | 13.1 | 0.39 |
| RCF4 | Left | 27.3 | 20.2 | 0.58 |
| | Right | 23.9 | 17.4 | 0.42 |

CL_L: Corrosion level of the longitudinal reinforcements, CL_s: Corrosion level of the stirrups, W_{cr}: Crack width (mm)

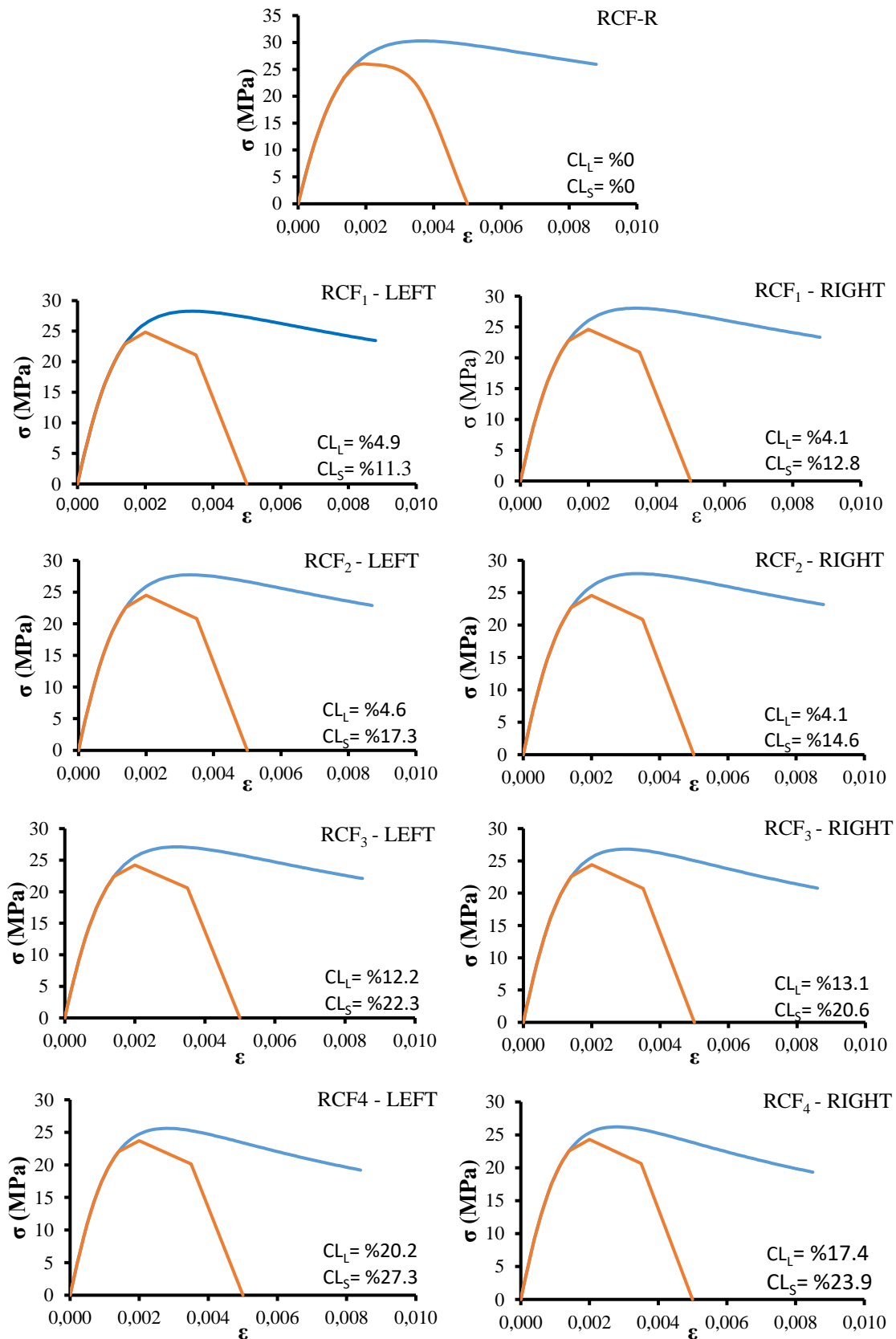


Figure 7. Confined and unconfined corroded concrete models

Reinforcement model

Within the scope of the analytical study, mechanical properties obtained from the tensile test results were used for the reinforcement used in the non-corroded reference specimen RCF_R. Although reinforcement corrosion in reinforced concrete elements generally occurs homogeneously, in some cases it can also be seen as pitting. Pitting corrosion in the reinforcement negatively affects the mechanical properties of the reinforcement and causes premature rupture under flexural and tensile effects. The complexity of estimating section losses resulting from the pitting corrosion mechanism makes it difficult to model them in analytical studies. For this reason, models that take homogeneous corrosion into account were used in the analytical study.

Yield stresses and elasticity module of reinforcement were calculated as a function of the corrosion level using the models developed by Wang and Liu (2008) (Equations 15-16), and ultimate stress and strain values were calculated using the models developed by Wu and Yuan (2008) (Equations 17-18).

$$f_{yc} = (1 - 0.0198\delta)f_y \quad (15)$$

$$E_{sc} = (1 - 0.0118\delta)E_s \quad (16)$$

$$f_{uc} = (1 - 0.0190\delta)f_u \quad (17)$$

$$\varepsilon_{uc} = (1 - 0.0210\delta)\varepsilon_u \quad (18)$$

The actual corrosion levels of all reinforcements in the corroded reinforced concrete frame specimens were determined by a gravimetric study. The actual corrosion levels were calculated using the empirical equations above and the changing mechanical properties of each reinforcement were calculated. In line with Turkish Building Earthquake Code (TBEC, 2018), the strain value at which the hardening starts was considered as 1/10 of the ultimate strain value. Tables 3-5 shows the mechanical properties of all reinforcements used in the sections within the scope of the analytical study and the final reinforcement diameter values (D_B) after section loss.

Table 2. Mechanical properties of the reinforcement bars for right column RCF₁ and RCF₂

| Specimen | <i>n</i> | <i>CLL</i> (%) | <i>D_B</i> (mm) | <i>A_s</i> | ε_y | ε_{sh} | ε_u | <i>f_y</i> (MPa) | <i>f_u</i> (MPa) | <i>E</i> (MPa) | |
|----------|----------|-------------------|------------------------------|----------------------|-----------------|--------------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------|
| Right | RCF-R | 1-8 | 0 | 14 | 153.9 | 0.0022 | 0.0116 | 0.116 | 500 | 590 | 227273 |
| | | 1 | 5.46 | 13.63 | 146 | 0.0021 | 0.0102 | 0.102 | 445.9 | 528.75 | 213239 |
| | RCF-1 | 2 | 2.14 | 13.85 | 150.7 | 0.0022 | 0.011 | 0.11 | 478.83 | 566.03 | 221782 |
| | | 3 | 5.96 | 13.6 | 145.3 | 0.0021 | 0.0101 | 0.101 | 440.96 | 523.15 | 211957 |
| | | 4 | 2.43 | 13.83 | 150.3 | 0.0022 | 0.011 | 0.11 | 475.9 | 562.71 | 221021 |
| | | 5 | 5.09 | 13.66 | 146.5 | 0.0021 | 0.0103 | 0.103 | 449.62 | 532.95 | 214203 |
| | | 6 | 4.78 | 13.68 | 146.9 | 0.0021 | 0.0104 | 0.104 | 452.69 | 536.43 | 215000 |
| | RCF-2 | 1 | 5.1 | 13.66 | 146.5 | 0.0021 | 0.0103 | 0.103 | 449.53 | 532.85 | 214180 |
| | | 2 | 4.59 | 13.69 | 147.2 | 0.0021 | 0.0104 | 0.104 | 454.55 | 538.54 | 215483 |
| | | 3 | 2.76 | 13.81 | 149.8 | 0.0021 | 0.0109 | 0.109 | 472.72 | 559.11 | 220196 |
| | | 4 | 6.25 | 13.58 | 144.9 | 0.0021 | 0.01 | 0.1 | 438.13 | 519.94 | 211222 |
| | | 5 | 5.27 | 13.64 | 146.2 | 0.0021 | 0.0103 | 0.103 | 447.78 | 530.87 | 213727 |
| 6 | | 1.6 | 13.89 | 151.5 | 0.0022 | 0.0112 | 0.112 | 484.16 | 572.06 | 223164 | |

Table 3. Mechanical properties of the reinforcement bars for right column RCF₃ and RCF₄

| Specimen | <i>n</i> | <i>CLL</i> (%) | <i>D_B</i> (mm) | <i>A_s</i> | ε_y | ε_{sh} | ε_u | <i>f_y</i> (MPa) | <i>f_u</i> (MPa) | <i>E</i> (MPa) | |
|----------|----------|-------------------|------------------------------|----------------------|-----------------|--------------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------|
| Right | RCF-3 | 1 | 18.52 | 12.86 | 129.9 | 0.0018 | 0.0071 | 0.071 | 316.64 | 382.38 | 179708 |
| | | 2 | 15.67 | 13.02 | 133.1 | 0.0018 | 0.0078 | 0.078 | 344.9 | 414.38 | 187038 |
| | | 3 | 9.79 | 13.36 | 140.2 | 0.002 | 0.0092 | 0.092 | 403.13 | 480.31 | 202143 |
| | | 4 | 19.05 | 12.83 | 129.3 | 0.0017 | 0.0069 | 0.069 | 311.43 | 376.48 | 178355 |
| | | 5 | 18.88 | 12.84 | 129.5 | 0.0018 | 0.007 | 0.07 | 313.09 | 378.36 | 178785 |
| | | 6 | 9.33 | 13.39 | 140.8 | 0.002 | 0.0093 | 0.093 | 407.65 | 485.44 | 203317 |

Experimental and Analytical Investigation of Moment-Carrying Capacities of Reinforced Concrete Frame Systems Corroded by Accelerated Corrosion Method

Table 3. Mechanical properties of the reinforcement bars for right column RCF₃ and RCF₄ (continued)

| | | | | | | | | | | | |
|--------------|-------|---|-------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|
| <i>Right</i> | RCF-4 | 1 | 23.03 | 12.62 | 125.1 | 0.0016 | 0.006 | 0.06 | 272.03 | 331.87 | 168135 |
| | | 2 | 15.22 | 13.04 | 133.6 | 0.0019 | 0.0079 | 0.079 | 349.36 | 419.43 | 188196 |
| | | 3 | 15.62 | 13.02 | 133.1 | 0.0018 | 0.0078 | 0.078 | 345.37 | 414.91 | 187159 |
| | | 4 | 27.37 | 12.4 | 120.9 | 0.0015 | 0.0049 | 0.049 | 229.04 | 283.19 | 156983 |
| | | 5 | 21.18 | 12.72 | 127 | 0.0017 | 0.0064 | 0.064 | 290.35 | 352.61 | 172888 |
| | | 6 | 25.28 | 12.51 | 122.9 | 0.0015 | 0.0054 | 0.054 | 249.7 | 306.58 | 162342 |

Table 4. Mechanical properties of the reinforcement bars for left column RCF₁ and RCF₂

| <i>Specimen</i> | <i>n</i> | <i>CLL</i> (%) | <i>DB</i> (mm) | <i>As</i> | ϵ_y | ϵ_{sh} | ϵ_u | <i>f_y</i> (MPa) | <i>f_u</i> (MPa) | <i>E</i> (MPa) | |
|-----------------|----------|-------------------|-------------------|-----------|--------------|-----------------|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------|
| <i>Left</i> | RCF-1 | 1 | 4.41 | 13.70 | 147.4 | 0.0021 | 0.0105 | 0.105 | 456.29 | 540.51 | 215935 |
| | | 2 | 3.89 | 13.74 | 148.2 | 0.0021 | 0.0106 | 0.106 | 461.50 | 546.40 | 217284 |
| | | 3 | 6.04 | 13.60 | 145.2 | 0.0021 | 0.0101 | 0.101 | 440.22 | 522.31 | 211765 |
| | | 4 | 5.59 | 13.62 | 145.8 | 0.0021 | 0.0102 | 0.102 | 444.67 | 527.35 | 212920 |
| | | 5 | 5.00 | 13.66 | 146.6 | 0.0021 | 0.0103 | 0.103 | 450.45 | 533.90 | 214419 |
| | | 6 | 6.00 | 13.60 | 145.2 | 0.0021 | 0.0101 | 0.101 | 440.56 | 522.70 | 211854 |
| <i>Left</i> | RCF-2 | 1 | 4.53 | 13.69 | 147.3 | 0.0021 | 0.0105 | 0.105 | 455.16 | 539.23 | 215641 |
| | | 2 | 2.46 | 13.83 | 150.2 | 0.0022 | 0.0110 | 0.110 | 475.68 | 562.47 | 220965 |
| | | 3 | 4.05 | 13.72 | 147.9 | 0.0021 | 0.0106 | 0.106 | 459.89 | 544.58 | 216868 |
| | | 4 | 5.85 | 13.61 | 145.4 | 0.0021 | 0.0101 | 0.101 | 442.04 | 524.38 | 212238 |
| | | 5 | 3.91 | 13.73 | 148.1 | 0.0021 | 0.0106 | 0.106 | 461.32 | 546.20 | 217238 |
| | | 6 | 8.31 | 13.45 | 142.1 | 0.0020 | 0.0095 | 0.095 | 417.75 | 496.87 | 205937 |

Table 5. Mechanical properties of the reinforcement bars for left column RCF₃ and RCF₄

| <i>Specimen</i> | <i>n</i> | <i>CLL</i> (%) | <i>DB</i> (mm) | <i>As</i> | ϵ_y | ϵ_{sh} | ϵ_u | <i>f_y</i> (MPa) | <i>f_u</i> (MPa) | <i>E</i> (MPa) | |
|-----------------|----------|-------------------|-------------------|-----------|--------------|-----------------|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------|
| <i>Left</i> | RCF-3 | 1 | 20.98 | 12.73 | 127.2 | 0.0017 | 0.0065 | 0.065 | 292.34 | 354.87 | 173404 |
| | | 2 | 6.25 | 13.58 | 144.9 | 0.0021 | 0.0100 | 0.100 | 438.17 | 519.99 | 211234 |
| | | 3 | 19.62 | 12.80 | 128.7 | 0.0017 | 0.0068 | 0.068 | 305.79 | 370.09 | 176892 |
| | | 4 | 12.32 | 13.21 | 137.1 | 0.0019 | 0.0086 | 0.086 | 378.02 | 451.88 | 195631 |
| | | 5 | 13.88 | 13.12 | 135.2 | 0.0019 | 0.0082 | 0.082 | 362.57 | 434.38 | 191621 |
| | | 6 | 11.38 | 13.27 | 138.2 | 0.0020 | 0.0088 | 0.088 | 387.31 | 462.40 | 198041 |
| <i>Left</i> | RCF-4 | 1 | 23.96 | 12.57 | 124.2 | 0.0016 | 0.0057 | 0.057 | 262.75 | 321.36 | 165727 |
| | | 2 | 21.59 | 12.70 | 126.6 | 0.0017 | 0.0063 | 0.063 | 286.24 | 347.96 | 171821 |
| | | 3 | 37.76 | 11.93 | 111.7 | 0.0010 | 0.0024 | 0.024 | 126.15 | 166.68 | 130291 |
| | | 4 | 23.45 | 12.60 | 124.7 | 0.0016 | 0.0059 | 0.059 | 267.88 | 327.16 | 167057 |
| | | 5 | 16.71 | 12.96 | 131.9 | 0.0018 | 0.0075 | 0.075 | 334.61 | 402.73 | 184369 |
| | | 6 | 30.54 | 12.25 | 117.9 | 0.0013 | 0.0041 | 0.041 | 197.67 | 247.66 | 148844 |

RESULTS AND DISCUSSION

Actual Corrosion Ratio

In order to determine the actual corrosion rates of reinforced concrete frames, each longitudinal and was removed from the concrete by crushing operations carried out after the reversible cyclic loading tests (Figure 8a). In order to accurately determine the mass loss of the samples after corrosion, all waste concrete and rust products on the reinforcement surface must be cleaned. In this context, first mechanical and then chemical cleaning processes were applied to all reinforcement in accordance with the ASTM G1-03 (2003) standard (Figure 8b). Mechanical cleaning process was carried out with fringed wire brushes and chemical cleaning process was carried out by preparing Clarke solution. After the cleaning process was completed, the final mass values of the reinforcement were obtained using a two-point load cell scale with 0.5 g sensitivity (Figure 8c).



Figure 8. Acquire actual corrosion ratio (a) breaking of concrete (b) chemical cleaning (c) weighing of the all reinforcement bars

Actual corrosion rates of all representative numbered longitudinal and stirrups of corroded reinforced concrete frame samples are given in Figure 9, depending on the calculated (%) mass loss relationship. It is understood from Figure 9 that the corrosion levels of stirrups are considerably higher than the corrosion levels of longitudinal reinforcement. This situation can be attributed to many factors: The simultaneous initiation of the corrosion process in both longitudinal and stirrups bars causes corrosion to begin earlier in the stirrups. The fact that the stirrups are closer to the specimen surfaces facilitates the penetration of chloride ions, oxygen and moisture, leading to more severe corrosion and wider concrete transverse cracks. For a constant depth of reinforcement corrosion, a larger reinforcement diameter corresponds to a lower measured corrosion ratio.

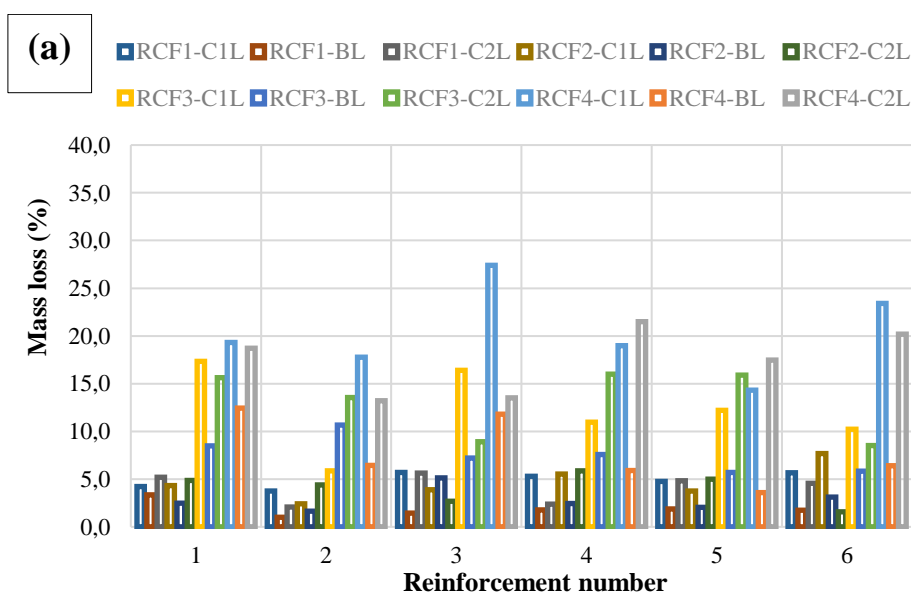


Figure 9. Actual corrosion ratio (a) longitudinal reinforcement bars (b) stirrups bars

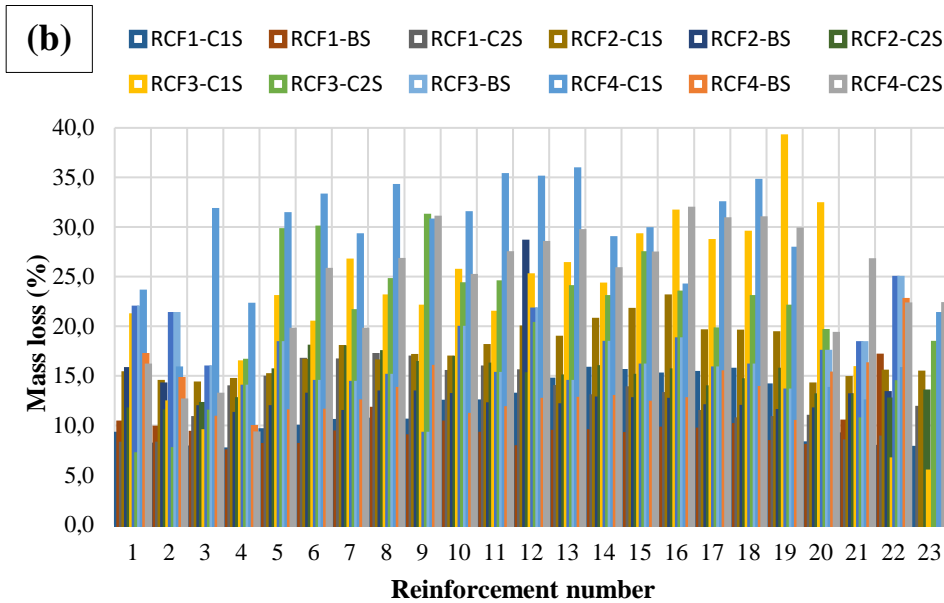


Figure 9. Actual corrosion ratio (a) longitudinal reinforcement bars (b) stirrups bars (continued)

Load-Displacement Relationships

Loading tests of reinforced concrete frames were carried out under the influence of cyclic loading and constant 20% axial load ($N_d = 0.2(A_C \times f_{ck})$). Lateral load values were obtained with the load cell placed at the end of the hydraulic piston, and the displacements obtained in the cycles were obtained with the potentiometer placed at the midpoint of the beam, and load-displacement graphs were created for all test samples. The drift ratio was defined by measuring the distance from the midpoint of the beam to the top of the foundation beam. The cyclic envelope curves defining the load-displacement capacity limit are shown in Figure 10.

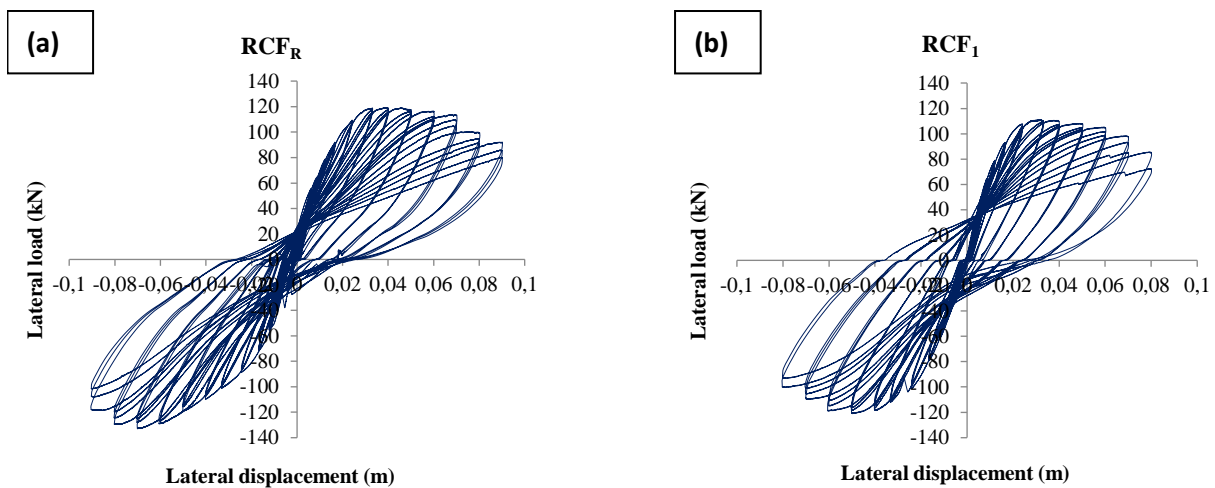


Figure 10. Hysteretic loops: (a) RCF_R; (b) RCF₁; (c) RCF₂; (d) RCF₃; (e) RCF₄

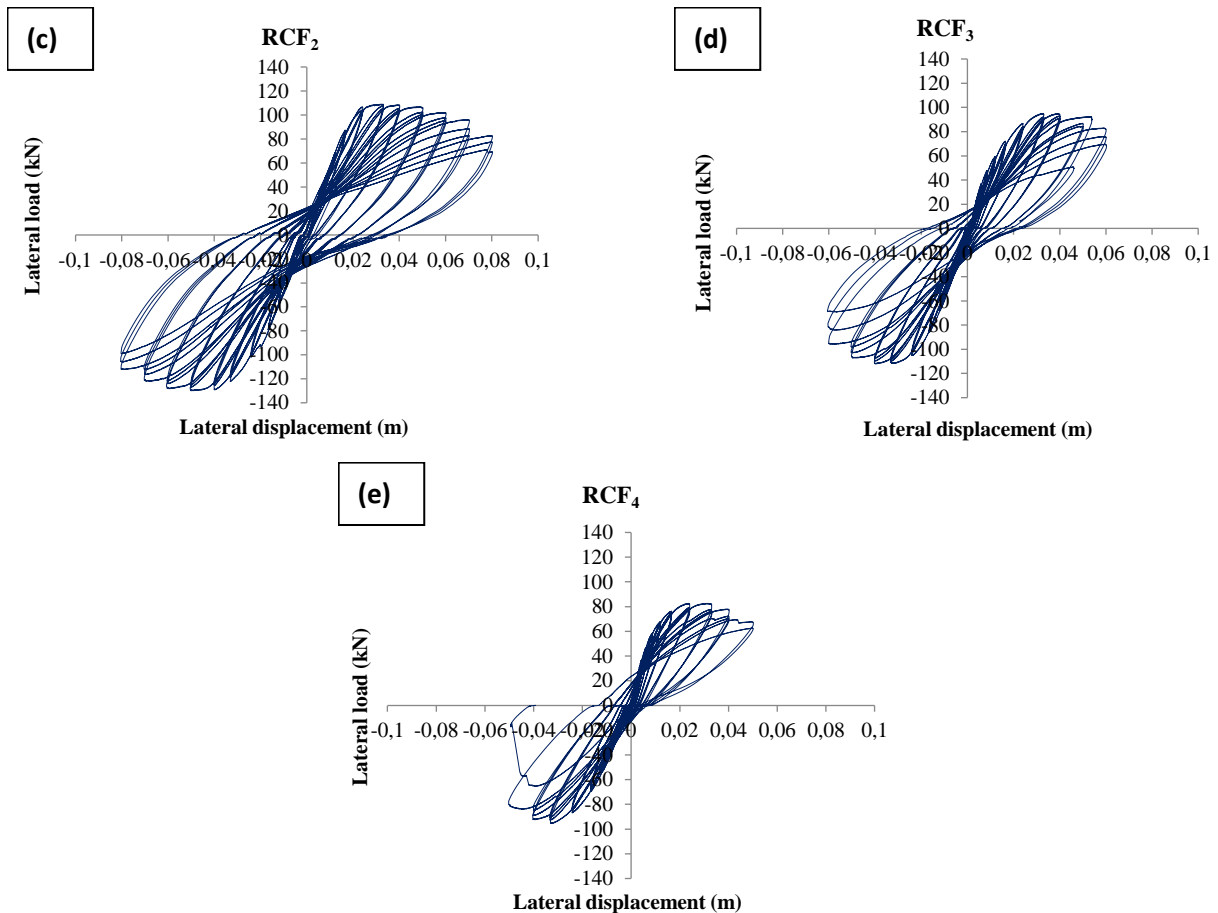


Figure 10. Hysteretic loops: (a) RCF_R; (b) RCF₁; (c) RCF₂; (d) RCF₃; (e) RCF₄ (continued)

As a result of the examination of the load-displacement graphs, it is seen that the number of cycles decreases as the corrosion rate increases. This is due to the fact that samples that reach early yielding state reach their bearing capacity at lower displacement values and have less energy absorption capacity. For example, the yield load and energy absorption capacity of the RCF₄ specimen, which had the highest average corrosion rate among the test samples with 17.11%, decreased by 25% and 71%, respectively, when the reference specimen was taken into consideration. The measured relative mechanical properties and moment-carrying capacities of each experimental specimen are summarized in Table 5 and 7 respectively.

Analytical results of the research

Section analysis were carried out to examine the effect of corrosion in reinforced concrete reinforcement bars on reinforced concrete sections under the influence of axial load and bending moment. In cross-section analyses, the negatory effects of reinforcement corrosion on concrete compressive strength and confinement effect were taken into account in concrete models with the help of empirical relations. The changing mechanical properties of rusted reinforced concrete reinforcements were also calculated with empirical relations and were reflected in the cross-sectional analyzes together with the diameter values calculated depending on the section losses. The moment-curvature relationships and the bending moment-axial load curves of the obtained from the sectional analyzes carried out with the effect of 20% axial load are shown in Figs. 11-12 respectively. In addition the moment-curvature relationship results are summarized in Table 6.

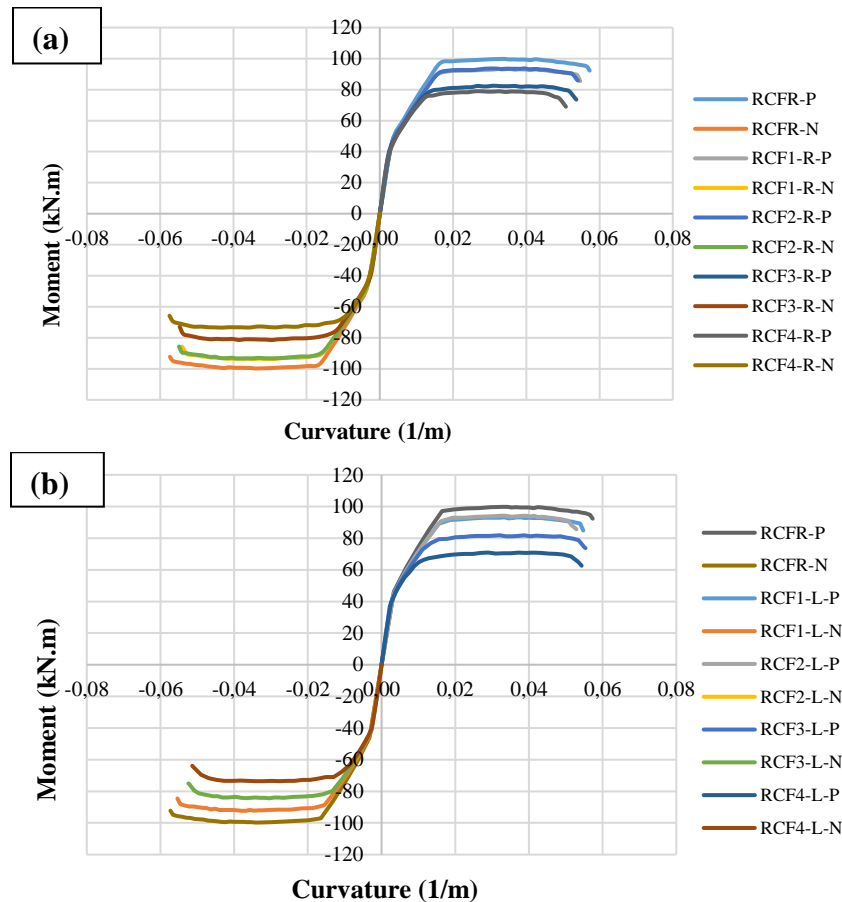


Figure 11. Moment-curvature relationships: (a) Left columns, (b) Right columns

In Fig. 12, the line of $0.4A_c f_{ck}$ represents the maximum allowable load that can be carried by a section according to the Turkish Building Earthquake Code (TBEC, 2018), where A_c is the cross-sectional area of a section. On the limit state line of $0.4A_c f_{ck}$, the moment capacity of the corroded RC section decreases as a function of corrosion level. The moment capacity of the non-corroded frame is 122 kN.m on this line, but this capacity decreased to 112 kN.m, 109 kN.m, 102 kN.m, and 94 kN.m after RCF₁, RCF₂, RCF₃, and RCF₄ specimens, respectively.

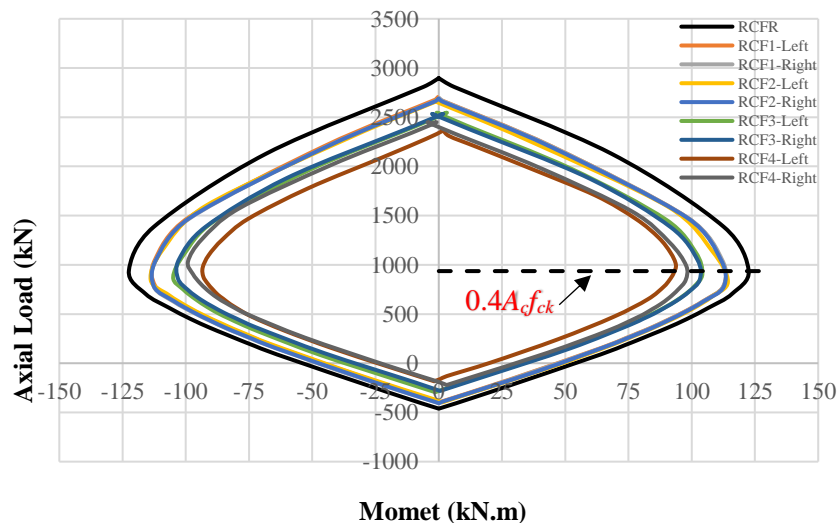


Figure 12. The bending moment-axial load interaction diagrams

Experimental and Analytical Investigation of Moment-Carrying Capacities of Reinforced Concrete Frame Systems Corroded by Accelerated Corrosion Method

Table 6. Moment-curvature results calculated from analytical study

| Specimens | Loading direction | M_y (kN.m) | Θ_y (1/m) | M_u (kN.m) | Θ_u (1/m) | $\mu\theta$ | E (kN-m) | |
|-----------|-------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|-------------|---------------|------|
| Right | RCF-R | P | | | | | | |
| | | N | 97.13 | 0.020 | 92.25 | 0.057 | 2.90 | 5.06 |
| | | O | | | | | | |
| | RCF-1 | P | 88.90 | 0.019 | 85.65 | 0.055 | 2.86 | 4.52 |
| | | N | 89.81 | 0.019 | 85.83 | 0.054 | 2.79 | 4.50 |
| | | O | 89.36 | 0.019 | 85.74 | 0.054 | 2.82 | 4.51 |
| | RCF-2 | P | 89.90 | 0.020 | 85.69 | 0.054 | 2.76 | 3.95 |
| | | N | 89.01 | 0.019 | 85.51 | 0.054 | 2.82 | 4.48 |
| | | O | 89.46 | 0.019 | 85.60 | 0.054 | 2.79 | 4.22 |
| | RCF-3 | P | 75.56 | 0.015 | 73.68 | 0.054 | 3.56 | 3.99 |
| | | N | 74.99 | 0.015 | 72.82 | 0.055 | 3.71 | 4.03 |
| | | O | 75.28 | 0.015 | 73.25 | 0.054 | 3.63 | 4.01 |
| RCF-4 | P | 70.19 | 0.014 | 68.98 | 0.051 | 3.68 | 3.61 | |
| | N | 65.57 | 0.012 | 65.78 | 0.057 | 4.93 | 3.88 | |
| | O | 67.88 | 0.013 | 67.38 | 0.054 | 4.30 | 3.75 | |
| Left | RCF-1 | P | 88.88 | 0.019 | 84.91 | 0.054 | 2.82 | 4.50 |
| | | N | 88.91 | 0.019 | 84.09 | 0.055 | 2.88 | 4.50 |
| | | O | 88.90 | 0.019 | 84.50 | 0.05 | 2.85 | 4.50 |
| | RCF-2 | P | 90.78 | 0.020 | 86.63 | 0.053 | 2.64 | 4.37 |
| | | N | 86.99 | 0.018 | 83.88 | 0.056 | 3.04 | 4.55 |
| | | O | 88.89 | 0.019 | 85.26 | 0.05 | 2.84 | 4.46 |
| | RCF-3 | P | 72.83 | 0.014 | 73.71 | 0.055 | 3.88 | 4.09 |
| | | N | 79.80 | 0.017 | 75.01 | 0.052 | 3.11 | 3.96 |
| | | O | 76.32 | 0.015 | 74.36 | 0.05 | 3.49 | 4.03 |
| | RCF-4 | P | 55.11 | 0.008 | 56.86 | 0.058 | 7.29 | 3.47 |
| | | N | 48.60 | 0.007 | 62.96 | 0.049 | 6.67 | 3.22 |
| | | O | 51.86 | 0.008 | 59.91 | 0.05 | 6.98 | 3.35 |

P: Positive direction, **N:** Negative direction, **O:** Average, M_y : Yield moment (kN.m), M_u : Ultimate moment (kN.m), Θ_y : Curvature corresponding to yield moment (1/m), Θ_u : Curvature corresponding to ultimate moment (1/m), $\mu\theta$: Curvature-based ductility ratio, E_u : Energy dissipation capacity (kN/m²).

As the corrosion ratio increased, the yield moments (M_y), ultimate moments and curvature values corresponding to these moment values of reinforced concrete frames also decreased. Considering the curvature-based ductility values, it is observed that there is an increase in ductility values as the corrosion rate increases. This misconception is caused by the corrosion mechanism and the deterioration of the mechanical properties of the reinforcement and the early yielding of the section. According to the energy absorption capacity values obtained by summing the areas under the cyclic graphs, compared to the reference specimens, RCF₁, RCF₂, RCF₃ and RCF₄ specimens are respectively 10.67%, 16.69%, 20.75% and 25.95% for the positive direction and 11.06%, 11.85%, 20.45% for the negative direction and it is seen that it decreased by 33.89%.

Table 7. Comparison of numerical and experimental results

| Specimens | Loading Direction | M_r exp. (kN.m) | M_r num. | Exp/Num | M_r exp. (kN.m) | M_r num. | Exp/Num |
|------------------|-------------------|----------------------|------------|---------|----------------------|------------|---------|
| | | | Right | | | Left | |
| RCF _R | P | | | | | | |
| | N | 91.80 | 99.77 | 0.92 | 91.80 | 99.77 | 0.92 |
| | O | | | | | | |
| RCF ₁ | P | 84.98 | 93.35 | 0.91 | 84.98 | 93.17 | 0.91 |
| | N | 92.66 | 93.87 | 0.99 | 92.66 | 92.32 | 1.00 |
| | O | 88.82 | 93.61 | 0.95 | 88.82 | 92.75 | 0.96 |
| RCF ₂ | P | 83.41 | 93.69 | 0.89 | 83.41 | 94.23 | 0.89 |
| | N | 99.41 | 93.32 | 1.07 | 99.41 | 91.54 | 1.09 |
| | O | 91.41 | 93.51 | 0.98 | 91.41 | 92.89 | 0.99 |

Experimental and Analytical Investigation of Moment-Carrying Capacities of Reinforced Concrete Frame Systems Corroded by Accelerated Corrosion Method

Table 7. Comparison of numerical and experimental results (continued)

| | | | | | | | |
|------------------|---|-------|-------|------|-------|-------|------|
| RCF ₃ | P | 72.26 | 82.52 | 0.88 | 72.26 | 81.83 | 0.88 |
| | N | 85.41 | 81.48 | 1.05 | 85.41 | 84.40 | 1.01 |
| | O | 78.84 | 82.00 | 0.96 | 78.84 | 83.12 | 0.95 |
| RCF ₄ | P | 63.20 | 78.99 | 0.80 | 63.20 | 70.91 | 0.89 |
| | N | 73.06 | 73.48 | 0.99 | 73.06 | 73.60 | 0.99 |
| | O | 68.13 | 76.24 | 0.90 | 68.13 | 72.26 | 0.94 |

P: Positive direction, N: Negative direction, O: Average,

In Table 7, the calculated numerical and measured experimental moment-carrying capacities of reinforced concrete frames are compared. As seen in Table 7, as the corrosion level increases, the moment carrying capacities of the samples decrease significantly (For example, the RCF₄ sample decreased by 25.78% compared to the RCF_R specimen). Considering the right and left columns of reinforced concrete frames, the bearing capacity capacities for both columns are similar due to the close corrosion levels. The moment values obtained from the analytical study can predict the moment values obtained from the experimental study with a rate of over 89%. As the corrosion ratio increases, deterioration in concrete and reinforcement brings about a decrease in the axial load value. This situation is thought to cause the experimental and analytical moment carrying capacity prediction results for the RCF₄ specimen, which has the highest corrosion ratio, to be at lower levels than the other samples.

CONCLUSION

Differences were observed in moment carrying capacity depending on the corrosion level distributions in the positive and negative loading directions. As the corrosion ratio increases, the cycles become narrower and their energy dissipation capacity decreases. Inconsistent results were obtained between the curvature-based ductility values obtained as a result of the sectional analyzes of corroded specimens. In this context, calculating the ductility ratio of elements exposed to corrosion with energy-based methods will produce more accurate results in evaluations in terms of ductility. In light of the data obtained from sectional analysis, considering reinforcement corrosion in reinforced concrete frames and deteriorations in the mechanical properties of concrete and reinforcement materials, can accurately estimate the moment-carrying capacity of corroded specimens.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed by the Scientific Research Projects Commissions of Inonu University under grant number FBA-2021-2483.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- ABYYHY., (1975). "Afet Bölgelerinde Yapılacak Binalar Hakkında Yönetmelik". Bayındırlık ve İskân Bakanlığı, Ankara, Türkiye.
- ABYYHY., (1998). "Afet Bölgelerinde Yapılacak Binalar Hakkında Yönetmelik". Bayındırlık ve İskân Bakanlığı, Ankara, Türkiye.
- Akiyama, M., Frangopol, D. M., Arai, M., & Koshimura, S. (2013). Reliability of bridges under tsunami hazards: Emphasis on the 2011 Tohoku-oki earthquake. *Earthquake Spectra*, 29(1), 295-314.

- Standard, A. S. T. M. (2003). G1-03. Standard Practice for preparing, cleaning, and evaluating corrosion test specimens, *Annual Book of ASTM Standards*, 3, 17-25.
- Binici, H. (2007). March 12 and June 6, 2005 Bingöl–Karlıova earthquakes and the damages caused by the material quality and low workmanship in the recent earthquakes. *Engineering Failure Analysis*, 14(1), 233-238.
- Çağatay, İ. H. (2005). Experimental evaluation of buildings damaged in recent earthquakes in Turkey. *Engineering Failure Analysis*, 12(3), 440-452.
- Caglar, N., Demir, A., Ozturk, H., & Akkaya, A. (2015). A simple formulation for effective flexural stiffness of circular reinforced concrete columns. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 38, 79-87.
- Cape, M., Residual service-life assessment of existing R/C structures, MS thesis, Chalmers University of Technology and Milan University of Technology, 1999.
- Celik, A., Yalciner, H., Kumbasaroglu, A., & Turan, A. İ. (2022). An experimental study on seismic performance levels of highly corroded reinforced concrete columns. *Structural Concrete*, 23(1), 32-50.
- Cheng, X., Ji, X., Henry, R. S., & Xu, M. (2019). Coupled axial tension-flexure behavior of slender reinforced concrete walls. *Engineering Structures*, 188, 261-276.
- Dok, G., Ozturk, H., & Demir, A. (2017). Determining moment-curvature relationship of reinforced concrete columns. *The Eurasia Proceedings of Science, Technology, Engineering and Mathematics (EPSTEM)*, 1, 52-58.
- Erdik, M., Yüzügüllü, Ö., Yilmaz, C., & Akkas, N. (1992). 13 March, 1992 ($M_s = 6.8$) Erzincan earthquake: A preliminary reconnaissance report. *Soil Dynamics and Earthquake Engineering*, 11(5), 279-310.
- Applied Technology Council, Mid-America Earthquake Center, Multidisciplinary Center for Earthquake Engineering Research (US), Pacific Earthquake Engineering Research Center, & National Earthquake Hazards Reduction Program (US). (2007). *Interim testing protocols for determining the seismic performance characteristics of structural and nonstructural components*. Federal Emergency Management Agency.
- Kaplan, H., Yilmaz, S., Binici, H., Yazar, E., & Çetinkaya, N. (2004). May 1, 2003 Turkey—Bingöl earthquake: damage in reinforced concrete structures. *Engineering Failure Analysis*, 11(3), 279-291.
- Lockner, D., Naka, H., Tanaka, H., Ito, H., & Ikeda, R. (2000). Permeability and strength of core samples from the Nojima fault of the 1995 Kobe earthquake. In *Proceedings of the international workshop on the Nojima fault core and borehole data analysis* (Vol. 129, pp. 147-152).
- Mondal, G., & Rai, D. C. (2008). Performance of harbour structures in Andaman Islands during 2004 Sumatra earthquake. *Engineering Structures*, 30(1), 174-182.
- Sengel, H. S., & Dogan, M. (2013). Failure of buildings during sultandagi earthquake. *Engineering Failure Analysis*, 35, 1-15.
- Sheikh, M. N., Tsang, H. H., McCarthy, T. J., Lam, N. T. K. (2010). Yield curvature for seismic design of circular reinforced concrete columns, *Magazine of Concrete Research*, 62(10), 741-748.
- TBEC- 2018. Turkish building earthquake code specifications for design of buildings under seismic effects. *Ministry of Disaster and Emergency Management Presidency*, Ankara, Turkey.
- Tezcan, S. S., & Ipek, M. (1996). A reconnaissance report: 1995 Dinar, Turkey, earthquake. *Engineering structures*, 18(12), 906-916.

- TS 500, (2000). Requirements for design and construction of reinforced concrete structures, turkish standards institute, Ankara, Turkey.
- Vecchio, F. J., & Collins, M. P. (1986). The modified compression-field theory for reinforced concrete elements subjected to shear. *ACI J*, 83(2), 219-231.
- Wang, X. H., & Liu, X. L. (2008). Modeling the flexural carrying capacity of corroded RC beam. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Science)*, 13, 129-135.
- Wastı, S. T., Sucuoğlu, H., & Utku, M. (2001). Buildings after the 1 October 1995. *Journal of Earthquake Engineering*, 5(2), 131-151.
- XTRACT. v.3.0.8. (2007). Cross-sectional structural analysis of components. *Imbsen Software System*. 9912 Business Park Drive, Suite 130, Sacramento CA 95827.
- Yalciner, H., & Kumbasaroglu, A. (2020). Experimental evaluation and modeling of corroded reinforced concrete columns. *ACI Structural Journal*, (4).
- Yalciner, H., & Kumbasaroglu, A. (2022). Experimental study to predict bond-slip behavior of corroded reinforced concrete columns. *ACI Structural Journal*, 119(5).
- Yalciner, H., Kumbasaroglu, A., & Karimi, A. (2019). Prediction of seismic performance levels of corroded reinforced concrete columns as a function of crack width. *Advances in Civil Engineering Materials*, 8(3), 376-397.
- Yalciner, H., Kumbasaroglu, A., & Turan, A. İ. (2019). Torsional behavior of reinforced concrete beams with corroded reinforcement. *Structures*, 20, 476-488.
- Yalciner, H., Kumbasaroglu, A., El-Sayed, A. K., Balkıs, A. P., Dogru, E., Turan, A. I., & Bicer, K. (2020). Flexural strength of corroded reinforced concrete beams. *ACI Structural Journal*, 117(1).
- Wu, Q., & Yuan, Y. S. (2008). Experimental study on the deterioration of mechanical properties of corroded steel bars. *China civil engineering journal*, 41(12), 42-47.
- Yüksel, B., Foroughi, S. (2020). Analysis of bending moment-curvature and the damage limits of reinforced concrete circular columns. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (19), 891-903.
- Zhang, M., Liu, R., Li, Y., & Zhao, G. (2018). Seismic performance of a corroded reinforce concrete frame structure using pushover method. *Advances in Civil Engineering*, 2018, 1-12.

An Automatic Parameter Calibration Method for the TUW Model in Streamflow Modeling

Muhammet YILMAZ

Highlights:

- TUW model was created for the study area
- The parameters of the TUW model were determined automatically with the DEoptim algorithm
- Simulation of streamflow data was carried out

Keywords:

- TUW model
- DEoptim algorithm
- Streamflow
- Objective function
- Türkiye

ABSTRACT:

The accurate modelling of streamflow is highly significant for hydrological monitoring, water resource management, and climate change studies. Streamflow simulation with lumped hydrological models has been widely performed by researchers. However, the parameter calibration process is a major obstacle in these models. In the present study, a conceptual rainfall-runoff model (TUW model) was used to simulate streamflow in the sub-basin of the Upper Euphrates Basin during the time period 1991-2009. The Differential Evolution Optimization (DEoptim) algorithm were tested for the automatic parameter calibration of the lumped version of TUW model, in the study area. The model is calibrated using two objective function named and Nash-Sutcliffe efficiency (NSE) and Kling-Gupta Efficiency (KGE). Additionally, percent bias (PBias) was used to evaluate the performance of the model. For the objective function NSE, calibration and validation results indicated good agreement between observed and simulated streamflow data with NSE, 0.76 and 0.76 and KGE, 0.73 and 0.75 and PBias (%), -0.8 and -7.5, respectively. Similarly for KGE objective function, the calibration results produced a NSE of 0.71, KGE of 0.85, and PBias (%) of -0.9, while validation results revealed a NSE of 0.72, KGE of 0.84, and PBias (%) of -7.2. It can be concluded that the applicability of the DEoptim algorithm for the estimation of the parameters of the TUW model is confirmed by the case study. The findings of the study can serve as a guide for researchers and be useful in achieving watershed management goals.

INTRODUCTION

Water resources are constantly under threat due to climate change, one of the urgent problems of the modern world (Nhemachena et al., 2020). Simulation of runoff is one of the most prominent research areas in the field of climate change in terms of adaptation to global warming (Adnan et al., 2017). Reliable prediction of water balance-related components is important for solving many water-related problems, such as flood forecasting, hydroelectric potential estimates, flood risk assessments, drought management, and agricultural activities (Farkas et al., 2016). Hydrological models are an effective tool for flow simulation and prediction. With the developing technology in recent years, models have become indispensable for the effective management of water resources (Brziak et al., 2020).

Numerous studies have investigated the simulation of runoff using various hydrological models in different basins. For example, Ye et al. (2014) used the Xin'anjiang model (XAJ), a conceptual rainfall runoff model, to simulate the runoff in Yanduhe basin in China. The results showed that compared to single-objective optimization results, the multi-objective optimization method extracts the parameter set more successfully. Piniewski et al. (2017) used the Soil and Water Assessment Tool model, a physically based semi-distributive model, to simulate the hydrological process for 80 different basins. In their results, they emphasized that the median KGE value during the calibration period was 0.76. Sleziak et al. (2021) analyzed the climate change impact on the runoff regime by using TUW (Technische Universität Wien) model in Slovakia. Their results showed the runoff increase during winter months, and decrease in the summer season compared to the historical period. To evaluate the skill of the TUW model, Zhong et al. (2021) divided the base period into two parts: the calibration period (1970–1984) and the validation period (1985–1989). The results showed that the observed runoff corresponds well with the simulated runoff, achieving the NSE values of 89% during the calibration period and 86% during the validation period. In this study, the conceptual TUW hydrological model, which has been successfully tested in various studies (Neri et al., 2020; Hafizi & Sorman, 2022; Durgut & Ayvaz, 2023), is employed.

The hydrological model contains quite a lot of parameters and it is not possible to measure them directly. Therefore, model calibration is an indispensable step for hydrological models to improve model performance (Behrouz et al., 2020). The traditional procedure of model calibration is usually done manually by trial and error or using graphical analysis to determine parameter values (Legates & McCabe, 1999; Shamsi & Koran, 2017), which is quite time-consuming. Thus, automatic calibration methods are becoming popular techniques to determine the optimal parameters of a model by reducing model calibration effort (Mancipe-Munoz et al., 2017; Sirisena et al., 2020; Alizadeh & Yazdi, 2023; Tiwari et al., 2024). There are a few studies around the world using the Differential Evolution Optimization (DEoptim) algorithm for automatic calibration of hydrological models (Sleziak et al., 2020; Garna et al., 2023; Rozos, 2023), but these are quite limited. Within the scope of the study, the TUW model was automatically calibrated with the DEoptim algorithm.

Hydrological models play a crucial role in a wide array of domains, including climate modeling, water resource management, the planning and design of hydraulic structures, as well as the early prediction of droughts and floods. For the reasons mentioned above, a hydrological model with calibrated parameters is very important for researchers. A possible explanation for the low frequency of application of lumped models such as the TUW model may be that tools linking hydrological model with multi-objective search algorithms are not readily available. This study presents the applicability of the DEoptim algorithm for the calibration of the TUW model.

The Euphrates basin, where many water resources structures have been constructed, is a very important basin in terms of water potential. For this reason, simulation of flow data in sub-basins can be a preliminary analysis for water resources management and climate change studies. Therefore, the aim of this study is to investigate the applicability of the TUW model for the simulation of flows in the sub-basin of the Euphrates basin and to automatically calibrate the model with the DEoptim algorithm. Additionally, to the best of the author's knowledge, there is no published study in the literature on the application of the DEoptim algorithm for hydrological model calibration in Turkey.

MATERIALS AND METHODS

Study Area

The Euphrates River Basin, which is located in the southeastern Anatolia region of Turkey, covers approximately 127,304 km² and is the largest of 25 river basins in Turkey (Hopur, 2017). The Euphrates River is formed by the combination of two main rivers: one of them is the Karasu river which springs from the Dumlu Mountain in Erzurum City and the other is the Murat river which originates from the Tendurek Mountain in Ağrı City (Yenigun et al., 2010).

A sub-basin of the Upper Euphrates River, is selected as study area for application of hydrological models as shown in Figure 1. The study area is located within the borders of Tunceli province in Turkey. Continental climate prevails in the study area. The summer months are very short and hot and dry, while the winters are very cold and rainy and last a long time. The basin is the drainage area of 2133 flow gauging station controlled by General Directorate of State Hydraulic Works in Turkey. The main reasons for concentrating on this basin in the study are; 1) snow melt contributes significantly to the total annual flow 2) the catchment has not been significantly affected by human intervention such as urbanization and reservoir regularization, 3) the gauging stations do not have missing data and are homogeneously distributed over the catchment. The study area has an area of 3284.8 km², which is approximately 2.57% of Euphrates Basin.

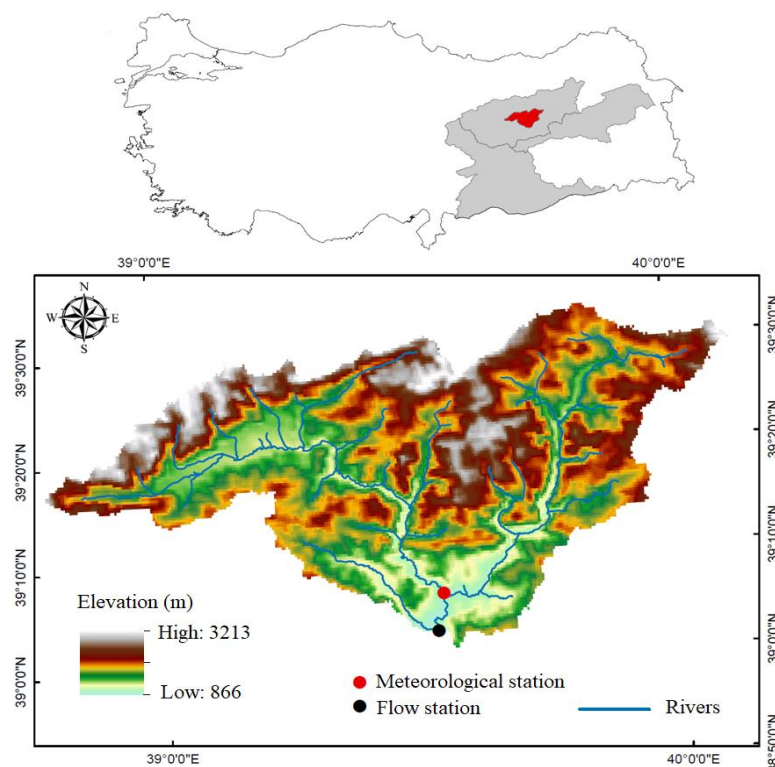


Figure 1. Study area with the location of the selected stations

Data

Daily observed precipitation and temperature data from Tunceli station (17165) were used to validate TUV model in the study area. Daily streamflow data of 2133 station were used to evaluate the performance of the model. The mean, median, and standard deviation for the daily flow series during the observation period are 88.67 m³/s, 53.5 m³/s, 83.09 m³/s, respectively. The coefficient of skewness quantifies the asymmetry of a distribution relative to its mean and is expressed without units. Its value is 2.35 for the observation period. A positive skewness indicates that the data is skewed towards the right. Nondimensionalization is typically carried out to facilitate comparisons of parameter magnitudes across different series. In practical terms, the coefficient of variation, calculated as the ratio of the standard deviation to the arithmetic mean, is the widely employed metric for this purpose. The value of the coefficient of variation for the data of station 2133 is 0.93.

All data mentioned were evaluated in hydrological modeling for the water years between October 1990 and September 2009. The locations of the streamflow station and meteorological station used in the study are given in Figure 1. Table 1 shows detailed information about streamflow and meteorological stations.

Table 1. Streamflow and meteorological stations used for model calibration and validation

| Station type | Station Name | Station ID | Latitude | Longitude | Data Length |
|----------------|--------------|------------|----------|-----------|--------------|
| Steramflow | Melekbahçe | 2133 | 39.0458 | 39.52611 | 1968-2009 |
| Meteorological | Tunceli | 17165 | 39.1058 | 39.5408 | 1960-present |

TUV hydrologic model

Within the scope of the study, the lumped version of the TUV model (Viglione & Parajka, 2014) was used. The TUV model follows the structure of the Swedish Hydrologiska Byråns Vattenbalansavdelning (HBV) model (Parajka et al., 2007). The model has been widely used in many studies in the field of hydrology (Ceola et al., 2015; Slezciak et al., 2016). The model operates on a daily time step and requires the following data: daily precipitation totals (mm), average daily air temperature (°C), and daily potential evapotranspiration (mm). The potential evaporation data were calculated using the Blaney-Cridde approach (Parajka et al., 2005). The TUV model has 15 parameters to calibrate snow, soil moisture, and runoff routines (Table 2).

Table 2. TUV model parameters

| Symbol | Description of the model parameters | Units | Range |
|------------|--|----------------------|----------|
| 1. SCF | Snow correction factor | - | 0.9–1.5 |
| 2. DDF | Degree day factor | mm/°C/day | 0.0–5.0 |
| 3. Tr | Threshold temperature above which precipitation is rain | °C | 1.0–3.0 |
| 4. Ts | Threshold temperature below which precipitation is snow | °C | -3.0–1.0 |
| 5. Tm | Temperature threshold above which melt starts | °C | -2.0–2.0 |
| 6. Lprat | Parameter related to the limit for potential evaporation | - | 0.0–1.0 |
| 7. FC | Field capacity | mm | 0.0–600 |
| 8. BETA | Non-linear parameter for runoff production | - | 0.0–20 |
| 9. K0 | Storage coefficient for a very fast response | day | 0.0–2.0 |
| 10. K1 | Storage coefficient for a fast response | day | 2.0–30 |
| 11. K2 | Storage coefficient for slow response | day | 30–250 |
| 12. lsuz | Threshold storage state | mm | 1.0–100 |
| 13. cperc | Constant percolation rate | mm/day | 0.0–8.0 |
| 14. bmax | Maximum base at low flows | day | 0.0–30 |
| 15. croute | Free scaling parameter | day ² /mm | 0.0–50 |

Calibration of the TUV model

The DEoptim algorithm was first developed by Storn and Price (1997) to avoid complex mathematical operations and also to give reliable solutions to engineering and finance models.

DEoptim is a population-based stochastic algorithm that searches for the global optimum for a specified objective function (Mullen et al., 2011). DEoptim algorithm has been widely used for optimization problems by different researchers in the literature (Cao et al., 2009; Yilmaz et al., 2021; Atanaw et al., 2023). In present study, the DEoptim algorithm of the package DEoptim developed by Ardia et al. (2016) in R software is utilized to calibrate the TUW model. The DEoptim algorithm was iterated one thousand times to optimize the fit between the simulated streamflow values and the observed values within a dependable range. The model was run daily for the calibration from 1991 to 2002, the validation period from 2003 to 2009.

Two objective functions: 1) Nash-Sutcliffe Efficiency (NSE) (Nash and Sutcliffe 1970) and 2) Kling-Gupta Efficiency (KGE) (Gupta et al., 1998; Kling et al., 2012) were utilized for parameter estimations. Thus, different aspects of streamflow estimations were examined in detail according to the results of two different objective functions widely used in hydrology. Additionally, Percent Bias (PBias) was used to evaluate model performance. Formulation of NSE KGE, and PBias are given in Equation 1, 2, and 3 respectively.

$$NSE = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - S_i)^2}{\sum_{i=1}^n (O_i - Q_m)^2} \quad (1)$$

$$PBias = \frac{\sum_{i=1}^n (S_i - O_i)}{\sum_{i=1}^n O_i} \times 100 \quad (2)$$

$$KGE = 1 - \sqrt{(r - 1)^2 + \left(\frac{\sigma_s}{\sigma_o} - 1\right)^2 + \left(\frac{\mu_s}{\mu_o} - 1\right)^2} \quad (3)$$

where Q_i indicates the observed streamflow, Q_m represents the mean observed streamflow, and S_i is the simulated streamflow, r indicates Pearson's correlation, σ_o and σ_s are the standard deviations in observation and simulated streamflow data, respectively; μ_o is the observation mean, and μ_s is the simulated data mean.

Table 3 was used to classify model performance.

Table 3. Performance ratings for evaluation metrics (Moriassi et a., 2007; Thiemig et al., 2013)

| Performance Criteria | Very Good | Good | Satisfactory | Unsatisfactory |
|----------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------|
| NSE | $0.75 < NSE \leq 1$ | $0.65 < NSE \leq 0.75$ | $0.5 < NSE \leq 0.65$ | $NSE \leq 0.5$ |
| PBIAS | $PBIAS < \pm 10$ | $\pm 10 \leq PBIAS < \pm 15$ | $\pm 15 \leq PBIAS < \pm 25$ | $BIAS \geq \pm 25$ |
| KGE | $0.9 \leq KGE \leq 1$ | $0.75 \leq KGE < 0.9$ | $0.5 \leq KGE < 0.75$ | $KGE < 0.5$ |

RESULTS AND DISCUSSION

19-year measured runoff data were collected from 2133 station in the upper Euprates Basin. In this study, 1991–2002 (12 years) was selected as the calibration periods, and 2003–2009 (7 years) was the verification periods of the TUW model. The parameters of the study area were automatically calibrated with the DEoptim algorithm. The calibration step was carried out in two steps. Firstly, NSE was used as the objective function and secondly, the KGE metric was used. Thus, a detailed evaluation was carried out in terms of NSE and KGE indices in reproducing the streamflow data.

With the NSE objective function, the graph of simulated and observed streamflow during calibration and validation were given in Figure 2. Figure 2 showed that the calibrated model generally underestimated peak flows, and this result was especially evident for the validation period. In the 2007 water year, the model underestimated extreme events. This is probably due to missing rainfall data in the study area because of flood events in that year. Statistical metrics results for the NSE objective

function are presented in Table 4. The NSE, KGE and PBias (%) values calculated in the calibration step were 0.76, 0.73, and -0.8, respectively. According to Moriasi et al., (2007), the model demonstrates ‘very good’ performance in terms of NSE and PBias, whereas it performed ‘good’ based on the KGE result.

In the validation stage, values of 0.76, 0.75, and -7.5 were obtained for The NSE, KGE and PBias (%) coefficient, respectively. Findings showed good agreement between the recorded and simulated daily streamflow data. When the objective function is considered as NSE, the optimal parameters obtained are presented in Table 5.

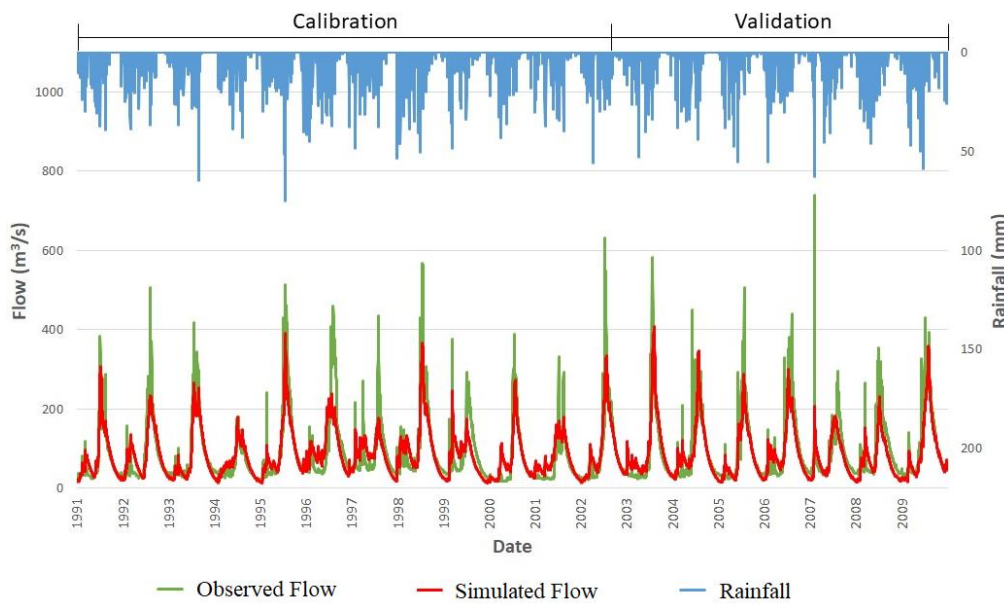


Figure 2. Comparison of daily observed and simulated streamflow at the station for NSE objective function

Table 4. Evaluation of the accuracy of calibration and validation periods of daily runoff for the NSE objective function

| No | Evaluation Statistics | | | | | |
|------|-----------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | KGE | | NSE | | PBias (%) | |
| | Calibration | Validation | Calibration | Validation | Calibration | Validation |
| 2133 | 0.73 | 0.75 | 0.76 | 0.76 | -0.8 | -7.5 |

Table 5. The optimum tuw model parameters for NSE and KGE objective functions in the study area

| Parameter Name | Objective function | |
|----------------------------------|--------------------|--------|
| | NSE | KGE |
| 1. SCF(-) | 1.49 | 1.49 |
| 2. DDF(mm/°C/day) | 1.10 | 0.84 |
| 3. Tr(°C) | 2.99 | 2.99 |
| 4. Ts(°C) | 0.99 | 0.99 |
| 5. Tm(°C) | 1.99 | 1.99 |
| 6. Lprat(-) | 0.99 | 0.99 |
| 7. FC(mm) | 232.36 | 221.97 |
| 8. BETA(-) | 0.06 | 0.06 |
| 9. K0(day) | 0.18 | 0.25 |
| 10. K1(day) | 28.62 | 29.86 |
| 11. K2(day) | 57.40 | 38.43 |
| 12. Isuz(mm) | 67.24 | 25.02 |
| 13. cperc(mm/day) | 7.99 | 7.99 |
| 14. bmax(day) | 7.44 | 2.78 |
| 15. croute(day ² /mm) | 24.03 | 19.23 |

The calibrated results of KGE for the selection of the objective function were similar to those of NSE. Figure 3 showed that there are years where peak flows are underestimated, and this result is evident in the water years 2002 and 2007. Table 6 shows the performance metrics values for the measured and simulated flow in the monitoring stations during calibration and validation periods, when KGE is considered as the objective function. The values of the statistical function were found to be 0.71 (NSE), 0.85 (KGE) and -0.9% (PBias) during calibration period. The model classified as “good” calibration period except for PBias, which displayed a “very good” performance. The NSE, KGE and PBias values calculated in the validation step were 0.72, 0.84, and -7.2 %, respectively. According to Moriasi et al., (2007), validation results are in the same class as calibration results. Table 5 presented the optimal parameters for the KGE objective function.

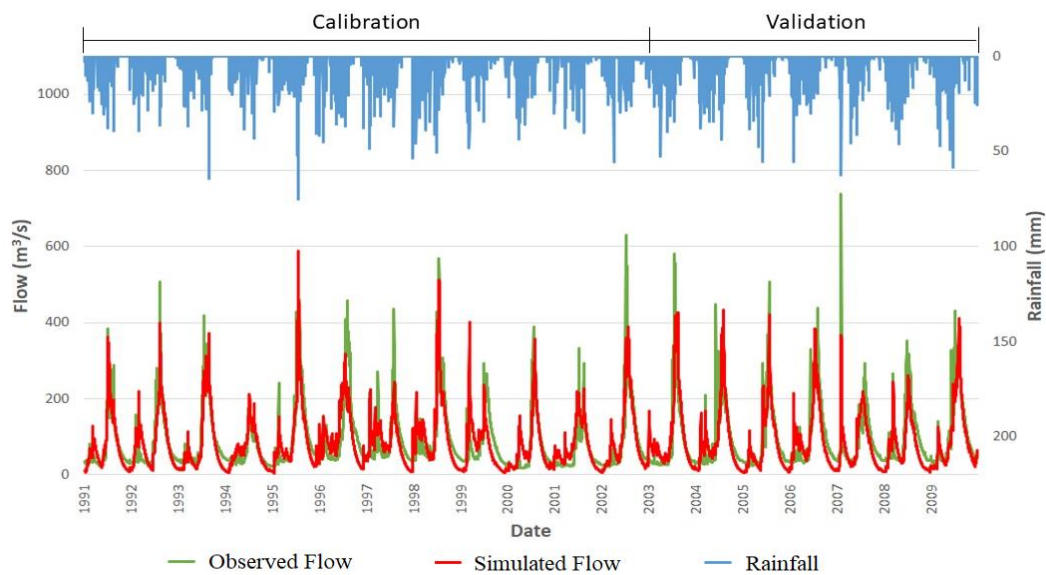


Figure 3. Comparison of Daily Observed and Simulated Streamflow at the Station for KGE Objective Function

Table 6. Evaluation of the accuracy of calibration and validation periods of daily runoff for the KGE objective function

| No | Evaluation Statistics | | | | | |
|------|-----------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | KGE | | NSE | | PBias (%) | |
| | Calibration | Validation | Calibration | Validation | Calibration | Validation |
| 2133 | 0.85 | 0.84 | 0.71 | 0.72 | -0.9 | -7.2 |

Evaluation between NSE and KGE objective functions showed that while the model is classified as “very good” for two metrics (NSE and PBias) in terms of NSE objective function, it is evaluated as “very good” for one index (PBias) in terms of KGE objective function.

The study site stands out as an area characterized by substantial snowmelt and determining water availability is critical in the region due to its contribution to the overall yearly streamflow. In the study area, as the weather warms up in late spring under the changing climate conditions, melting snow leads to high flows, and predicting these high flows becomes important for early flood warning systems. In fact, a general evaluation showed that maximum flows were successfully predicted except for the years when extreme events occurred (see Figures 2 and 3). Hence, the model's ability to accurately simulate peak flows is satisfactory in terms of achieving another aim of the study.

Consequently, the TUW model is able to reproduce the observed daily streamflow at the outlet of the study basin with a high level of accuracy.

CONCLUSION

Accurate estimation of flow data is very important for the effective management of a basin's water resources. Moreover, a successfully calibrated hydrological model for any basin is a preliminary analysis for climate change studies. TUW model was used to investigate the hydrological component of the sub-basin of the upper Euphrates basin, which is controlled by 2133 flow observation stations in Turkey. The model was calibrated in daily steps and the calibration process was carried out with the DEoptim algorithm. The performance of the TUW model in the calibration and validation phase was calculated using NSE, PBIAS and KGE evaluation criteria, which are widely used in the literature. When NSE was selected as the objective function, NSE, KGE, and PBIAS (%) values reached 0.76, 0.73 and -0.8, respectively, during the calibration period. In the validation phase, NSE, KGE, and PBIAS (%) values were 0.76, 0.75, and -7.5, respectively. For KGE objective function, the statistical values of NSE, KGE, and PBIAS (%) were established to be 0.71, 0.85, and -0.9 respectively for the time of calibration. Similarly, the statistical values of NSE, KGE, and PBIAS were established to be 0.72, 0.84, and -7.2 respectively for the time of validation. According to the classification of Moriasi et al. (2007), the NSE objective function gave a more successful prediction result than the KGE in reproducing the streamflow data. The results showed that the automatically calibrated model is capable of reproducing the observed daily streamflow data in this basin with a high level of accuracy. According to the results of the study, the DEoptim algorithm showed successful results. In this context, it is planned to conduct climate change studies using a model calibrated with the DEoptim algorithm in future studies.

REFERENCES

- Adnan, M., Nabi, G., Poomee, M. S. & Ashraf, A. (2017). Snowmelt runoff prediction under changing climate in the Himalayan cryosphere: a case of Gilgit River Basin. *Geoscience. Frontiers*, 8(5), 941–949. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2016.08.008>.
- Alizadeh, Z. & Yazdi, J. (2023). Calibration of hydrological models for ungauged catchments by automatic clustering using a differential evolution algorithm: The Gorganrood river basin case study. *Journal of Hydroinformatics*, 25 (3), 645–662.
- Ardia, D., Boudt, K., Carl, P., Mullen, M. K. & Peterson, G. B. (2011). Differential evolution with DEoptim. *The R Journal*, 3(27).
- Atanaw, S. B., Zimale, F.A., Ayenew, T. & Ayele, G. T. (2023). Modeling future hydrological responses through parameter optimization and climate change scenarios in Dirima Watershed, Ethiopia. *Modeling Earth Systems and Environment*, <https://doi.org/10.1007/s40808-023-01817-z>
- Behrouz, M.S., Zhu, Z., Matott, L.S. & Rabideau, A.J. (2020). A new tool for automatic calibration of the storm water management model (SWMM). *Journal of Hydrology*, 581, 124436.
- Brziak, A., Kubáň, M., Kohnová, S. & Szolgay, J. (2020). Comparison of the variances of a lumped and semi-distributed model parameters. *Acta Hydrologica Slovaca*, 21(2), 172-177.
- Cao, R., Vilar, J. M. & Devia, A. (2009). Modelling consumer credit risk via survival analysis. *Sort-Statistics and Operations Research Transactions*, 33(1), 3-30.
- Ceola, S., Arheimer, B., Baratti, E., Blöschl, G., Capell, R., Castellarin, A., Freer, J., Han, D., Hrachowitz, M., Hundecha, Y., Hutton, C., Lindström, G., Montanari, A., Nijzink, R., Parajka, J., Toth, E., Viglione, A. & Wagener, T. (2015). Virtual laboratories: new opportunities for collaborative water science. *Hydrology and Earth System Sciences*, 19, 2101– 2117.
- Durgut, P.G. & Ayvaz, M.T. (2023). A novel fully hybrid simulation-optimization approach for enhancing the calibration and verification performance of the TUW hydrological model. *Journal of Hydrology*, 617, 128976.

- Farkas, C., Kværnø, S. H., Engebretsen, A., Barneveld, R. & Deelstra, J. (2016). Applying profile and catchment-based mathematical models for evaluating the run-off from a Nordic catchment. *Journal of Hydrology and Hydromechanics*, 64(3), 218–225. <https://doi.org/10.1515/johh-2016-0022>.
- Garna, R. K., Fuka, D. R., Faulkner, J. W., Collick, A. S. & Easton, Z. M. (2023). Watershed model parameter estimation in low data environments. *Journal of Hydrology Regional Studies*, 45, 101306. <https://doi.org/10.1016/j.ejrh.2022.101306>
- Gupta, H. V., Sorooshian, S. & Yapo, P. O. (1998). Toward improved calibration of hydrologic models: multiple and noncommensurable measures of information. *Water Resources Research*, 34, 751–763. <https://doi.org/10.1029/97WR03495>.
- Hafizi, H. & Sorman, A. A. (2022). Assessment of 13 Gridded Precipitation Datasets for Hydrological Modeling in a Mountainous Basin. *Atmosphere*, 13, 143. <https://doi.org/10.3390/atmos13010143>.
- Hopur, B. (2017). A new basin management concept for Turkey: National basin management strategy. *Biyolojik Çeşitlilik Ve Koruma*, 10(2), 20-25.
- Kling, H., Fuchs, M. & Paulin, M. (2012). Runoff conditions in the upper Danube basin under an ensemble of climate change scenarios. *Journal of Hydrology*, 424 (425), 264–277. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2012.01.011>.
- Legates, D R. & McCabe, G. J. Jr. (1999) Evaluating the use of "goodness-of-fit" measures in hydrologic and hydroclimatic model validation. *Water Resources Research*, 35:233–241.
- Mancipe-Munoz, N.A., Buchberger, S.G., Suidan, M.T. & Lu, T. (2014). Calibration of rainfall- runoff model in urban watersheds for stormwater management assessment. *Journal of Water Resources Planning Management*, 140 (6).
- Moriasi, D. N., Arnold, J. G., Van Liew, M. W., Bingner, R. L., Harmel, R. D. & Veith, T. L. (2007). Model Evaluation Guidelines for Systematic Quantification of Accuracy in Watershed Simulations. *Transactions of the ASABE*, 50(3), 885–900.
- Mullen, K. M., Ardia, D., Gil, D. L., Windover, D. & Cline, J. (2011). DEoptim: an R package for global optimization by differential evolution. *Journal of Statistical Software*, 40(6):1–26. <https://doi.org/10.18637/JSS.V040.I06>
- Nash, J. E & Sutcliffe, J. V. (1970). River flow forecasting through conceptual models part I — A discussion of principles. *Journal of Hydrology*, 10(3), 282–290. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-1694\(70\)90255-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-1694(70)90255-6)
- Neri, M., Parajka, J. & Toth, E. (2020). Importance of the informative content in the study area when regionalising rainfall-runoff model parameters: The role of nested catchments and gauging station density. *Hydrology and Earth System Sciences*, 24, 5149–5171.
- Nhemachena, C., Nhamo, L., Matchaya, G., Nhemachena, C. R., Muchara, B., Karuaihe, S. T. & Mpandeli, S. (2020). Climate Change Impacts on Water and Agriculture Sectors in Southern Africa: Threats and Opportunities for Sustainable Development. *Water*, 12, 2673. <https://doi.org/10.3390/w12102673>
- Parajka, J., Merz, R. & Blöschl, G. (2005). A comparison of regionalisation methods for catchment model parameters. *Hydrology and Earth System Sciences*, 9(3), 157–171. <https://doi.org/10.5194/hess-9-157-2005>.
- Parajka, J., Merz, R. & Blöschl, G. (2007). Uncertainty and multiple objective calibration in regional water balance modelling: Case study in 320 Austrian catchments. *Hydrological Processes*, 21, 435–446.
- Piniewski, M., Szcześniak, M., Kardel, I., Berezowski, T., Okruszko, T., Srinivasan, R., Schuler, D. V. & Kundzewicz, Z. V. (2017). Hydrological modelling of the Vistula and Odra river basins using SWAT. *Hydrological Sciences Journal*, 62 (8), 1266–1289. doi:10.1080/02626667.2017.1321842
- Rozos, E. (2023). Assessing Hydrological Simulations with Machine Learning and Statistical Models. *Hydrology*, 10, 49. <https://doi.org/10.3390/hydrology10020049>
- Shamsi, U.S. & Koran, J. (2017). Continuous calibration. *Journal of Water Management Modeling*, 25, 1–9.

- Sirisena, T. A. J. G., Maskey, S. & Ranasinghe, R. (2020). Hydrological Model Calibration with Streamflow and Remote Sensing Based Evapotranspiration Data in a Data Poor Basin. *Remote Sensing*, 12, 22: 3768. <https://doi.org/10.3390/rs12223768>.
- Sleziak, P., Holko, L., Danko, M. & Parajka, J. (2020). Uncertainty in the Number of Calibration Repetitions of a Hydrologic Model in Varying Climatic Conditions. *Water*, 12, 2362. <https://doi.org/10.3390/w12092362>
- Sleziak, P., Szolgay, J., Hlavčová, K. & Parajka, J. (2016). The impact of the variability of precipitation and temperatures on the efficiency of a conceptual rainfall-runoff model. *Slovak Journal of Civil Engineering*, 24 (4), 1–7. <https://doi.org/10.1515/sjce-2016-0016>.
- Sleziak, P., Výleta, R., Hlavčová, K., Danáčová, M., Aleksić, M., Szolgay, J. & Kohnová, S. A. (2021) Hydrological Modeling Approach for Assessing the Impacts of Climate Change on Runoff Regimes in Slovakia. *Water*, 13, 3358. <https://doi.org/10.3390/w13233358>.
- Storn, R. & Price, K. (1997). Differential evolution - A simple and efficient heuristic for global optimization over continuous spaces. *Journal of Global Optimization*, 11(4), 341-359.
- Thiemig, V., Rojas, R., Zambrano-Bigiarini, M. & De Roo, A. (2013). Hydrological evaluation of satellite-based rainfall estimates over the Volta and Baro-Akobo Basin. *Journal of Hydrology*, 499, 324–338.
- Tiwari, D., Trudel, M., & Leconte, R. (2024). On optimization of calibrations of a distributed hydrological model with spatially distributed information on snow. *Hydrology and Earth System Sciences*, 28, 1127–1146.
- Viglione, A. & Parajka, J. (2014). TUWmodel: Lumped hydrological model for educational purposes. Version 0.1-4. <https://cran.rproject.org/web/packages/TUWmodel/index.html>.
- Ye, Y., Song, X., Zhang, J., Kong, F. & Ma, G. (2014) Parameter identification and calibration of the Xin'anjiang model using the surrogate modeling approach. *Frontiers of Earth Science*, 8, 264–281. <https://doi.org/10.1007/s11707-014-0424-0>
- Yenigün, K., Bilgehan, M., Gerger, R. & Mutlu, M. (2010). A comparative study on prediction of sediment yield in the Euphrates basin. *International Journal of the Physical Sciences*, 5(5), 518-534. doi: 2B15E0C25933
- Yilmaz, M., Tosunoglu, F. & Demirel, M. C. (2021). Comparison of conventional and differential evolution-based parameter estimation methods on the flood frequency analysis. *Acta Geophys*, 69, 1887–1900. <https://doi.org/10.1007/s11600-021-00645-y>
- Zhong, D., Dong, Z., Fu, G., Bian, J., Kong, F., Wang, W & Zhao, Y. (2021). Trend and change points of streamflow in the Yellow River and their attributions. *Journal of Water and Climate Change*, 12 (1), 136–151. doi: <https://doi.org/10.2166/wcc.2020.144>

Atf İçin: Gençer, N., Baltacı, A. ve Çıkrıkçı, K. (2024). Afinite Kromatografisi Yöntemi ile Saflaştırılan Karbonik Anhidraz (I-II) İzoenzimleri Üzerine Bazı Pestisitlerin İn Vitro Etkilerinin Araştırılması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 783-789.

To Cite: Gençer, N., Baltacı, A. & Çıkrıkçı, K. (2024). Investigation of In Vitro Effects of Some Pesticides on Carbonic Anhydrase (I-II) Isoenzymes Purified by Affinity Chromatography Method. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 783-789.

Afinite Kromatografisi Yöntemi ile Saflaştırılan Karbonik Anhidraz (I-II) İzoenzimleri Üzerine Bazı Pestisitlerin İn Vitro Etkilerinin Araştırılması

Nahit GENÇER^{1*}, Aybike BALTACI¹, Kübra ÇIKRIKCI¹

Öne Çıkanlar:

- Karbonik anhidraz izoenzimlerinin saflaştırma
- Enzim üzerine pestisitlerin inhibisyon etkilerinin belirlenmesi
- IC₅₀ değerlerinin hesaplanması

ÖZET:

Bu çalışmanın amacı; çevre ve insan sağlığı için toksisitesi yüksek olan bazı pestisitlerin hidrataz aktivite yöntemi kullanılarak karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve II) üzerine etkilerini araştırmaktır. İnsan kan eritrositlerinden Sefaroz-4B-4-(6-Amino-heksilokzi)-benzenesülfonamid afinite jeli kullanılarak hCA I ve II izoenzimleri saflaştırıldı. Enzimlerin saflığı; sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi ile kontrol edildi. Ayrıca bazı pestisitlerin hCAI-II izoenzimlerini *in vitro* ortamda μM düzeylerde inhibe ettiği belirlendi. Bu pestisitlerden hCA-I enzimi için en güçlü inhibitörün Simazin (IC₅₀: 0,366 μM), en zayıf ise Koumatetralil (IC₅₀: 6,41 μM) olduğu belirlendi. hCA-II enzimi için en güçlü inhibitörün Klorpirifos (IC₅₀: 0,527 μM), en zayıf inhibitörün ise Koumatetralil (IC₅₀: 8,74 μM) olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler:

- Karbonik anhidraz,
- Pestisitler,
- Enzim inhibisyonu

Investigation of *In Vitro* Effects of Some Pesticides on Carbonic Anhydrase (I-II) Isoenzymes Purified by Affinity Chromatography Method

Highlights:

- Purification of carbonic anhydrase isoenzymes
- Determination of the inhibitory effects of pesticides on the enzyme
- Calculation of IC₅₀ values

ABSTRACT:

The aim of this study was to investigate the effects of some pesticides with high toxicity for the environment and human health on carbonic anhydrase isoenzymes (hCA I and II) using hydratase activity method. hCA I-II were purified from human blood erythrocytes using Sepharose-4B-4-(6-Amino-hexyloxy)-benzenesulfonamide affinity gel. In order to determine the purity of the enzymes, sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis was performed. In addition, it was determined that some pesticides inhibited hCAI-II isoenzymes at μM levels *in vitro*. It was determined that among these pesticides, the strongest inhibitor for the hCA-I enzyme was simazine (IC₅₀: 0.366 μM), and the weakest was coumatetralil (IC₅₀: 6.41 μM). The strongest inhibitor for the hCA- II enzyme was chlorpyrifos (IC₅₀: 0.527 μM), and the weakest inhibitor was coumatetralil (IC₅₀: 8.74 μM).

Keywords:

- Carbonic anhydrase,
- Pesticides
- Enzyme inhibition

¹Nahit GENÇER ([Orcid ID: 0000-0001-7092-8857](https://orcid.org/0000-0001-7092-8857)), Aybike BALTACI ([Orcid ID: 0000-0003-1185-7336](https://orcid.org/0000-0003-1185-7336)), Kübra ÇIKRIKCI ([Orcid ID: 0000-0003-2276-1516](https://orcid.org/0000-0003-2276-1516)), Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Çağış Kampüsü, Balıkesir, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Nahit GENÇER, e-mail: ngencer@balikesir.edu.tr

Bu çalışma Aybike Baltacı'nın tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Pestisitler, dünya nüfusunun artması ile tarımda ürün ihtiyacını karşılamak ve verimi arttırmak için son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisit, “ürünler üzerinde zararlı etkiye sahip olan ve verimi azaltan herhangi bir zararlıyı (böcek, akar, sıçan, yabancı ot vb.) önlemek, yok etmek veya uzaklaştırmak için kullanılan madde veya madde karışımı” olarak tanımlanabilir (Ortiz-Hernández ve ark., 2013). Bu pestisitler, kimyasal yapılarına ve kullanım alanlarına göre sınıflandırılmaktadır. Kimyasal yapılarına göre en yaygın olanları; organoklorinler, organofosfatlar ve karbamatlardır. Organoklorinler, en az bir tane kovalent olarak bağlı klorin atomu ile karakterize edilir ve biyolojik olarak parçalamayan uçucu kimyasallar sınıfında yer alır. Diklofluanid ile dimetaklor bu grupta yer alır ve fungusit olarak kullanılır (Parte ve ark., 2017). Organofosfatlar ise fosforik asitlerden türetilen esterlerdir ve en bilinen nörolojik etkileri asetilkolin aktivitesinin inhibisyonu olup, çeşitli zehirlenme semptomlarına neden olurlar. İnsektisit olarak kullanılan klorpirifos, klorpirifos-metil ve azinfos-etil organofosfatlar sınıfındadır (Rathod ve Garg, 2017). Organofosforlu pestisitler, organoklorlu pestisitler ile kıyaslandığında daha az toksiktir, ayrıca daha etkilidirler. Karbamatlar, dimetil/metil/ditiyo-N-metil karbamik asit türevleri olarak kabul edilir ve karbaril, propoksür, karbofuran ve 1-naftol bu sınıfa ait pestisitlerdir. Bu pestisitler, canlı organizmada oksidasyon, hidroliz, biyotransformasyon, fotoliz ve metabolik reaksiyonlar gibi farklı yollardan birkaç ürüne dönüştürülür. Söz konusu pestisitler; cilt, göz yoluyla, ağızdan buhar, aerosol veya toz şeklinde maruz kaldığında sağlık problemlerine neden olabilmekte ve maruz düzeyi arttıkça canlılar için ölümcül olabilmektedir (Aravind ve ark., 2020; Fama ve ark., 2022).

İnsan karbonik anhidrazları (E.C 4.2.2.1.1) (hCA), alfa (α) sınıfına ait ve karbondioksitin (CO_2) bikarbonat ve protona hidrasyonunu katalize eden, aktif bölgesinde çinko (Zn^{+2}) içeren metaloenzimdir (Beydemir ve Gülçin, 2004; Supuran ve ark., 2003). CA'lar, farklı katlanmalara ve yapıya sahip olmalarına rağmen ortak CO_2 hidrataz aktivitesine sahip düşük sekans benzerliğine bağlı sekiz farklı ailede gruplanır. Bunlar: α -, β -, γ -, δ -, ζ -, η -, θ - ve ι -CA'lar olarak adlandırılır (Del Prete ve ark., 2020). α -CA ailesi gen dizilimine bağlı 16 farklı izoenzimi, farklı dokularda dağılım gösterir. CA-I ve CA-II sitoplazmiktir. Ayrıca CA-I eritrositlere özgü iken, CA-II çoğu hücrede bulunur. CA-I, insan kan eritrosit hücrelerinde bulunan ve solunum olayında görev alan izoenzimdir (Christie ve ark., 1997). CA-II ise kemik, beyin, böbrek dokularında önemlidir, çünkü renal kortekste Na^+ ve suyun yeniden emilmesini sağlar; bu nedenle bu izoenzimin eksikliği, böbrek taşı ve kemiklerde kireçlenmeye neden olmaktadır (Burish ve Redd., 1994).

Bu çalışmada, insan kan eritrositlerinden CA (I-II) izoenzimleri, afinite kromatografisi ile tek adımda saflaştırılmıştır. Fungusit, insektisit, herbisit olarak kullanılan 15 farklı pestisit (Alaklor, Propoksür, 1-Naftol, Simazin, Diklofluanid, Klorpirifos, Klorpirifos – Metil, Azinfos – Etil, Dimetaklor, Tebukonazol, Amitraz, Dazomet, Koumatetralil, Karbaril, Karbofuran) CA (I-II) izoenzimleri üzerine *in vitro* etkileri hidrataz atkitive metodu kullanılarak araştırıldı.

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

Pestisitler, Sefaroz-4B, CNBr, protein standartı ve elektroforez kimyasalları dahil olmak üzere bu çalışmada kullanılan malzemeler Sigma-Aldric firmasından ve kullanılan diğer malzemeler ise Merck'den temin edildi. Çalışma yerel etik kurul tarafından (Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırma Etik Kurulu, Balıkesir, Türkiye, Karar No. 2020/24 ve Tarih: 05.02.2020) onaylandı.

Numunenin Hazırlanması ve CA I ve II'nin Afinite Kolonundan Saflaştırılması

Sağlıklı gönüllülerden kan (20 mL) numuneleri alındı. Kan örnekleri +4 °C' de 15000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Plazma ve beyaz kan hücreleri ayrıldı. Daha sonra kan numunesi 2 kez % 0,9 NaCl ile yıkandı ve hacminin 3 katı soğuk distile su ile hemoliz edildi. Hemolizat +4 °C' de 15000 rpm'de 40 dakika santrifüj edildi. Hazırlanan hemolizat katı Tris-bazı ile pH:8,7'ye ayarlandı. Sefaroz-4B-4-(6-Amino-heksilokzi)-benzensülfonamit içeren afinite kolonu dengeleme tamponu (25 mM Tris-Baz/ 0,1 M Na₂SO₄ pH:8,7) ile dengelendikten sonra hemolizat kolona tatbik edildi. Daha sonra afinite kolonu yıkama tamponu (25 mM Tris-Baz / 22 mM Na₂SO₄ pH:8,7) ile yıkandı ve hCA-I (50 mM Na₂HPO₄ / 1 M NaCl pH:6,3) ile hCA-II (0,1 M CH₃COO / 0,5 M NaClO₄ pH:5,6) izoenzimleri sırasıyla elüe edildi.

Bradford yöntemi ile protein tayini

Afinite kromatografi tekniği ile saflaştırılan izoenzimlerin protein miktarı, standart olarak sığır serum albümin kullanılarak Bradford yöntemine göre 595 nm'de spektrofotometrik olarak belirlendi (Bradford, 1976). Oluşturulan standart grafiğin eğiminden, protein miktarı belirlenerek saflaştırma tablosu oluşturuldu.

SDS-PAGE

İzoenzimlerin saflığının kontrolü için Laemmli yöntemine göre, sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) uygulandı (Laemmli, 1970). Yığma ve ayırma jelleri sırasıyla %3- %10 olacak şekilde iki farklı akrilamid konsantrasyonu hazırlandı. İzoenzim numuneleri 20 µL jele yüklendi. Jeller, %0,1 Coomassie Brilliant Blue R-250, %50 metanol ve %10 asetik asit içinde 1,5 saat boyunca inkübatörde boyamaya bırakıldı. Renk açma çözeltisi içinde 1 gün boyunca bekletildikten sonra jel görüntüleme sistemi ile görüntü bilgisayar ortamına aktarıldı.

CO₂-hidrataz aktivite tayini

CA hidrataz aktivitesi; CO₂ hidrasyonu sonucu açığa çıkan H⁺ iyonu ile pH'nın 10' dan 7,4'e düşmesi için gereken sürenin ölçülmesi prensibine dayanan Maren metodu ile ölçüldü (Maren ve ark., 1997). 10 mL'lik ve 1 cm çaplı cam tüp içine 0,5 M Na₂CO₃/ 0,1 M NaHCO₃ (pH:10) tamponu ve pH indikatörü olarak fenol kırmızı ilave edildi, kırmızıdan sarıya renk değişiminin süresi (saniye) kaydedilerek aşağıdaki denklem ile enzim ünitesi (EU) hesaplandı. Burada, *t*₀ enzimatik olmayan ve *t*_c enzimatik reaksiyonların pH değişimi ile kaydedilen süreyi ifade etmektedir.

$$\text{Enzim Ünitesi (EU)} = \frac{t_0 - t_c}{t_c}$$

İnhibitörlerin IC₅₀ değerlerinin hesaplanması

İnsan kan eritrositlerinden saflaştırılan CA izoenzimleri üzerine 15 farklı pestisit'in inhibisyon etkisini belirlemek için hidrataz metodu kullanıldı (Maren ve ark., 1997). 10 mL'lik ve 1 cm çaplı cam tüp içine 1,9 mL pH indikatörü olarak fenol kırmızısı ve 1,3 mL doymun CO₂ substrat çözeltisi ilave edildi. Ardından 100 µL enzim ve en son 400 µL 0,5 M Na₂CO₃/ 0,1 M NaHCO₃ (pH=10) tamponu ilave edilerek süre kronometre ile ölçüldü (*t*_c). Aynı işlemler her örnek çalışmasından önce enzim çözeltisi yerine 100 µL destile su konularak tekrar yapıldı (*t*₀). Destile suyun hacmi, kullanılan pestisit hacmi kadar azaltılarak, hacim miktarı sabit tutuldu. Pestisitler 10 mM konsantrasyonda DMSO içerisinde çözülerek hazırlandı ve ortamda inhibitör yok iken enzim aktivitesi belirlenerek, %100 aktivite olarak kabul edildi. Test edilen inhibitör hacimlerindeki DMSO'nun enzim aktiviteleri üzerinde inhibisyon etkisi olmadığı belirlendi (Grafik çizilmedi) Tüm inhibitörler için ölçümler

belirlenen konsantrasyonlarda 3 kez tekrar edildi. Her inhibitör için % Aktivite – İnhibitör grafikleri çizildi ve bu grafiklerin eğimlerinden IC₅₀ değeri hesaplandı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Pestisitlerin ekolojik etkileri ile ilgili endişeler dünyanın hemen hemen her yerinde artmaktadır. Tarımda verimi artırmak için birçok pestisit kullanılmaktadır ancak bazı pestisitler çevre üzerinde öngörülemez birçok olumsuz etkiye sahiptir. Ayrıca uzun yarılanma ömrüne sahip pestisitler nispeten küçük dozlarda enzimlerin aktivitelerini değiştirir ve organizmaların metabolizmasını etkileyerek hayvan ve insan sağlığı için potansiyel risk oluşturur (Arslan ve ark., 2018; Gençer ve ark., 2012; Sinan ve ark., 2007).

Bu çalışmada, insan kan eritrositlerinden CA (I-II) izoenzimleri, Sefaroz-4B-4-(6-Aminoheksilokzi)-benzensülfonamit jelinden afinite kromatografi tekniği ile tek adımda saflaştırıldı. Kantitatif protein tayini olarak Bradford yöntemi kullanıldı ve standart grafik oluşturularak izoenzim çözeltilerinin protein miktarı belirlendi. hCA-I, 709,09 EU/mg spesifik aktivite ve % 70,91 verimle 95,53 kat, hCA-II ise 1600 EU/mg spesifik aktivite ve % 52,36 verimle 215,56 kat saflaştırıldı (Çizelge 1). Enzim saflığının kontrolü ve molekül kütesinin belirlenmesi için SDS-PAGE yapıldı, ve tek bant gözlemlendi. Molekül kütleleri yaklaşık 30 kDa bulundu ve literatür ile uyumlu olduğu tespit edildi (Cuatrecasas, 1970).

Çizelge 1: Enzim Saflaştırma tablosu

| Saflaştırma Basamağı | Toplam Hacim (mL) | Aktivite (EU/mL) | Protein (mg/mL) | Toplam Protein(mg) | Toplam Aktivite (EU) | Spesifik Aktivite (EU/mg) | Saflaştırma Kat sayısı | %Verim |
|----------------------|-------------------|------------------|-----------------|--------------------|----------------------|---------------------------|------------------------|--------|
| Hemolizat | 20 | 110 | 14,82 | 296,40 | 2200 | 7,42 | - | - |
| hCA-I | 10 | 156 | 0,22 | 2,20 | 1560 | 709,1 | 95,53 | 70,91 |
| hCA-II | 8 | 144 | 0,09 | 0,72 | 1152 | 1600 | 215,56 | 52,36 |

Çalışmamızda, CA-I ve CA-II izoenzimleri üzerine 15 farklı pestisitlerin inhibitör etkisi hidrataz aktivite metodu ile belirlendi. Genel olarak inhibitörlerin enzimler üzerine etkileri IC₅₀ (enzim aktivitesini %50 azaltan inhibitör konsantrasyonu) değeri olarak verilmektedir. İnhibisyon çalışmamız için; beş farklı inhibitör konsantrasyonunda hidrataz aktivitesiyle ölçümler yapıldı. Her pestisit için %Aktivite-İnhibitör grafiği çizilerek IC₅₀ değerleri belirlendi. Çalışmamızda kullanılan pestisitlerin CA-I ve II izoenzimlerini önemli ölçüde inhibe ettiği belirlendi (Çizelge 2).

Bu pestisilerden CA-I için en güçlü inhibitörün Simazin (IC₅₀:0,366 µM), en zayıf inhibitörün ise Koumatetralil (IC₅₀:6,41 µM) olduğu ve CA-II için ise en güçlü inhibitörün Klorprifos (IC₅₀:0,527 µM), en zayıf inhibitörün Koumatetralil (IC₅₀:8,74 µM) olduğu bulunmuştur. Simazin, tarım alanlarında herbisit olarak kullanılan ve geniş yapraklı otları elektron taşıma sistemi aracılığıyla inhibe ederek kontrol altında tutan pestisittir. Simazin yüzey suyu, yeraltı suyu ve okyanuslarda tespit edilmiştir. Potansiyel toksisitesi ve biyobirikimi nedeniyle biyokimyasal döngüyü ve çevre güvenliğini etkilemektedir. Bu pestisit konsantrasyonu 0,06-4,00 mg/L olduğunda balık hematolojisi ve biyokimyasındaki birçok fizyolojik özelliklerini değiştirdiğini ve konsantrasyon 121 mg/L'ye çıktığında, 24 saat içerisinde sığanlarda dopaminerjik nöranal hasara neden olduğu tespit edilmiştir. Simazin'in insan vücudu üzerindeki toksisitesi net olmasa da üzerine odaklanması gereken eser miktarda bir kirletici olduğu belirtilmiştir (Heydens ve ark., 1999; Ren ve ark., 2021).

Çizelge 2: İnhibisyon Değerleri

| Pestisitler | IC ₅₀ (µM) (Hidratat) hCA-I | IC ₅₀ (µM) (Hidratat) hCA-II |
|-------------------|--|---|
| Propoksur | 0,600 | 1,280 |
| Alaklor | 2,360 | 0,536 |
| 1-Naftol | 1,310 | 0,685 |
| Klorpirifos | 0,591 | 0,527 |
| Simazin | 0,366 | 0,594 |
| Diklofluanid | 1,395 | 0,529 |
| Klorpirifos-metil | 0,614 | 6,040 |
| Azinfos - etil | 0,534 | 0,544 |
| Dimetaklor | 0,585 | 0,578 |
| Tebukonazol | 0,602 | 0,603 |
| Amitraz | 3,300 | 3,470 |
| Dazomet | 3,860 | 3,900 |
| Koumatetralil | 6,410 | 8,740 |
| Karbofuran | 3,350 | 3,410 |
| Karbaril | 2,860 | 3,460 |

Simazin'in bazı enzimleri üzerine inhibisyon etkisi araştırılmış, domuz böbreğinden proliferatif enzimi üzerine IC₅₀: 17 mM, asetilkolinesteraz enzimi üzerine IC₅₀: 10,38 µM ve paraoksonaz1 (PON1) enzimi üzerine IC₅₀:11,78 µM olduğu bildirilmiştir (Holovská ve ark., 2020; Topal ve ark., 2016; Ergun, 2022). Yapılan başka bir çalışmada ise bal arısından (*Apis mellifera*) CA saflaştırılmış ve esteraz aktivitesi ile Simazin'in inhibisyon etkisi IC₅₀: 0,0273 µM olarak belirlenmiştir (Soydan ve ark., 2017). Koumetetralil; antikoagülan kemirgen öldürücüler sınıfında yer alan simbiyotik kemirgenleri kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu pestisit etki mekanizması, K vitamini döngüsünü engellemesidir (Han ve ark., 2023; Lin ve ark., 2022). Koumetetralilün gökkuşuğu alabalığı beyninden saflaştırılan asetilkolinesteraz enzimi üzerine inhibitör etkisi IC₅₀: 30 µM olarak bulunurken, insan kan serumundan saflaştırılan PON1 üzerine inhibitör etkisi IC₅₀: 9,55 µM olarak tespit edilmiştir (Ergun, 2022; Topal ve ark., 2015). Literatürde Klorpirifos için yapılan çalışmalarda, *Rassostrea Rhizophora* solungaçlarından Asetilkolinesteraz enzimi saflaştırılmış ve inhibisyon etkisi IC₅₀: 7,55 mM olarak bulunmuştur. Gökkuşuğu alabalığı karaciğerinden ise tiyoredoksin redüktaz enzimi saflaştırılmış ve Klorpirifosun inhibisyon etkisi IC₅₀:0,38 µM olarak bulunmuştur. Bir başka çalışmada ise sığır eritrositlerinden CA enzimini saflaştırılmış ve Klorpirifosun inhibisyon etkisi esteraz aktivitesi ile IC₅₀:84,124 µM olarak tespit edilmiştir (Souza ve ark., 2018; Özgençli ve ark., 2013; Demirdağ, ve ark., 2012). Bu çalışmada CA(I-II) izoenzimlerini kullanılan pestisitler µM düzeyde inhibe etmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada İmazethapyr, 2,4-D dimetilamin, Glifosat izopropilamin ve Propamokarb HCl'nin insan eritrosit karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I-II) üzerindeki etkileri hidrataz aktivitesi ile *in vitro* yöntemi kullanılarak kolorimetrik olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak CA-I ve CA-II için mazetapir, 2,4-D dimetilamin, Glifosat izopropilamin ve Propamokarb HCl'nin IC₅₀ değerleri; 0,093 mM, 0,463 mM, 0,617 mM, 0,46 mM ve 0,152 mM, 0,628 mM, 0,904 mM, 0,62 mM olarak bulunmuştur (Gençer ve ark., 2012). Bir başka çalışmada ise Saneen keçisinden CA enzimi saflaştırılmış ve bazı pestisitlerin inhibisyon etkisi çalışılmış; Nuarimol, Fenarimol ve 2,4- diklorofenoksi asetik asit için IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,352 mM, 0,924 mM ve 2,04 mM olarak bulunmuştur (Sinan 2007). Bu çalışmalarda kullanılan pestisitlerin, farklı enzimler veya CA'lar üzerine inhibisyon etkileri incelenmiş ve sonuçlar farklı konsantrasyonlarda (µM veya mM) bulunmuştur. Bunun nedeni bazı çalışmalarda esteraz bazı çalışmalarda ise hidrataz aktivitesi kullanılmasından dolayı olabileceği gibi kullanılan enzim kaynaklarının farklı olmasıdır. Bu

çalışmada ise CA'nın spesifik substratı olan CO₂'i kullanarak hidrataz aktivitesi ile bazı pestisitlerin inhibisyon etkilerini belirlenmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmada CA (I-II) izoenzimleri affinite kromatografisi ile saflaştırıldı ve bazı pestisitlerin *in vitro* toksikolojik etkileri araştırıldı. CO₂'nin hidrasyonu sonucu açığa çıkan H⁺ iyonu ile pH 10.0'dan 7,4 'e düşmesi için geçen sürenin ölçülmesi prensibine göre CO₂ hidrataz aktivitesi bulunmuştur ve pestisitlerin inhibisyon etkilerini belirlemek için çizilen % aktivite-inhibitör grafiklerden IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Tarım alanlarında kontrolsüzce kullanılan bu pestisitler besin zinciri yolu ile insan sağlığını tehdit etmekle beraber, çevre ve su kirliliğine de neden olmaktadır. Bundan dolayı canlıların yapısında son derece fizyolojik fonksiyona sahip karbonik anhidraz enzimi saflaştırılmış ve bazı pestisitlerin hidrataz aktivitesi ile inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçların bundan sonraki yapılacak toksikoloji araştırmalarına veya nitelikli benzer çalışmalara kaynak olacağı kanaatindeyiz.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkıları

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Aravind, S., Kumar, P. S., Kumar, N. S., & Siddarth, N. (2020). Conversion of green algal biomass into bioenergy by pyrolysis. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 18, 829-849.
- Arslan, M., Tak, T., Ergun, A., Gencer, N., & Arslan, O. (2018). Effects of four pesticides on broilers glutathione-s-transferase activity. *Fresenius Environmental Bulletin*, 9529.
- Beydemir, S. Ü., & Gülçin, İ. (2004). Effects of melatonin on carbonic anhydrase from human erythrocytes *in vitro* and from rat erythrocytes *in vivo*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 19(2), 193-197.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Burish, T. G., & Redd, W. H. (1994). Symptom control in psychosocial oncology. *Cancer*, 74(S4), 1438-1444.
- Christie, K. N., Thomson, C., Xue L., Lucocq, J. M., & Hopwood, D. (1997). Carbonic anhydrase isoenzymes I, II, III, and IV are present in human esophageal epithelium. *Journal of Histochem Cytochem*, C. 45(1),35-40.
- Cuatrecasas, P. (1970). Protein purification by affinity chromatography: Derivatizations of agarose and polyacrylamide beads. *Journal of Biological Chemistry*, 245(12), 3059-3065.
- Del Prete, S., Nocentini, A., Supuran, C. T., & Capasso, C. (2020). Bacterial α -carbonic anhydrase: a new active class of carbonic anhydrase identified in the genome of the Gram-negative bacterium *Burkholderia territorii*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 1060-1068.
- De Souza, P.R., De Souza, K.S., De Assis, C.R.D., De Araújo, M.C., Silva, K.C.C., Da Silva, J.D.F.X. & Souza Bezerra, R.De. (2018). Acetylcholinesterase of mangrove oyster *crassostrea rhizophorae*: a highly thermostable enzyme with promising features for estuarine biomonitoring. *Aquatic Toxicology*, 197, 109-121.
- Demirdağ, R., Yerlikaya, E., Aksakal, E., Küfrevioğlu, Ö. I. & Ekinci, D. (2012). Influence of pesticides on the pH regulatory enzyme, carbonic anhydrase, from european seabass liver and bovine erythrocytes. *Environ Toxicol Pharmacol*, 34(2),218-222.

- Ergun, A. (2022). Effects of some pesticides on purified human paraoxonase 1 activity, in vitro. *Fresenius Environmental Bulletin*, 31(9), 9627-9633.
- Fama, F., Feltracco, M., Moro, G., Barbaro, E., Bassanello, M., Gambaro, A., & Zanardi, C. (2022). Pesticides monitoring in biological fluids: Mapping the gaps in analytical strategies. *Talanta*, 123969.
- Gençer, N., Ergün, A., & Demir, D. (2012). *In vitro* effects of some herbicides and fungicides on human erythrocyte carbonic anhydrase activity. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(3), 549-552.
- Han, M., Zhang, J., Wei, H., Zou, W., Zhang, M., Meng, X., ... & Wang, C. (2023). Rapid and robust analysis of coumatetralyl in environmental water and human urine using a portable raman spectrometer. *ACS Omega*, 8(14), 12878-12885.
- Heydens, W. F., Wilson, A. G., Kier, L. D., Lau, H., Thake, D. C., & Martens, M. A. (1999). An evaluation of the carcinogenic potential of the herbicide alachlor4 to man. *Human & Experimental Toxicology*, 18(6), 363-391.
- Holovská, V., Pistl, J. & Kovalkovičová, N. (2007). *In vitro* effect of pesticides (dichlofluanid, endosulfan, simazine, tolylfluanid and triallate) on proliferative activity of animal derived cell cultures. *Acta Biologica Hungarica*, 58(1), 61- 74,
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685.
- Lin, W. L., Chen, K. H., Liao, C. P., & Tseng, H. Y. (2022). Short-term exposure of anticoagulant rodenticides leads to the toxin accumulation from prey (*Rattus losea*) to predator (*Elanus caeruleus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 233, 113361.
- Maren, T. H., Conroy, C. W., Wynns, G. C., & Godman, D. R. (1997). Renal and cerebrospinal fluid formation pharmacology of a high molecular weight carbonic anhydrase inhibitor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280(1), 98-104.
- Ortiz-Hernández, M.L., Sánchez-Salinas, E., Dantán-González, E., & Castrejón-Godínez, M.L. (2013). Pesticide biodegradation: mechanisms, genetics and strategies to enhance the process. *Biodegradation-life of Science*, 10, 251-287.
- Özgençli, İ., Temel, Y., Çiftçi, M. & Küfrevioğlu, Ö. (2013). Bazı Pestisitlerin Gökkuşuğu Alabalığı Karaciğerinden Saflaştırılan Mitokondrial Tiyoredoksin Redüktaz Enziminin Aktivitesi Üzerine *In Vitro* Etkilerinin İncelenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(2), 109-117.
- Parte, S. G., Mohekar, A. D., & Kharat, A. S. (2017). Microbial degradation of pesticide: a review. *African Journal of Microbiology Research*, 11(24), 992-1012.
- Rathod, A. L., & Garg, R. K. (2017). Chlorpyrifos poisoning and its implications in human fatal cases: A forensic perspective with reference to Indian scenario. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 47, 29-34.
- Ren, W., Huang, X., Wang, L., Liu, X., Zhou, Z., Wang, Y., ... & Ouyang, W. (2021). Degradation of simazine by heat-activated peroxydisulfate process: A coherent study on kinetics, radicals and models. *Chemical Engineering Journal*, 426, 131876.
- Sinan, S., Gencer, N., Turan, Y., & Arslan, O. (2007). *In vitro* inhibition of the carbonic anhydrase from saanen goat (*Capra hircus*) with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(3), 307-311.
- Soydan, E., Güler, A., Bıyık, S., Şentürk, M., Supuran, C.T. & Ekinci, D. (2017). Carbonic anhydrase from apis mellifera: purification and inhibition by pesticides. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 47–50,
- Supuran, C. T., Scozzafava, A., & Casini, A. (2003). Carbonic anhydrase inhibitors. *Medicinal Research Reviews*, 23(2), 146-189.
- Topal, A., Şişecioğlu, M., Atamanalp, M., Işık, A. & Yılmaz, B. (2016). The *in vitro* and *in vivo* effects of chlorpyrifos on acetylcholinesterase activity of rainbow trout brain. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 243-247.

To Cite: Topal, M., Topal, F. & Yılmaz, F. (2024). Exploring the Impacts of *Angelica purpurascens* Extracts on Anticholinergic, Antidiabetic Antibacterial Potential, and Antioxidant Capacity. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 790-804.

Exploring the Impacts of *Angelica purpurascens* Extracts on Anticholinergic, Antidiabetic, Antibacterial Potential, and Antioxidant Capacity

Meryem TOPAL^{1*}, Fevzi TOPAL^{2,3}, Fırat YILMAZ³

Highlights:

- Findings suggest potential for incorporation into nutraceuticals or pharmaceuticals to address health concerns
- Studies indicate promising antidiabetic effects, offering potential for managing blood sugar levels as an alternative or adjunctive treatment for diabetes mellitus
- Extracts show strong antioxidant properties, combating oxidative stress and potentially preventing oxidative stress-related diseases

ABSTRACT:

In Kars-Sarıkamış-Soğanlı, *Angelica purpurascens* (*A. purpurascens*) emerges as a promising natural antioxidant source. Extracts from its leaves, branches, and flowers underwent thorough bioanalytical assessments. The leaf extract exhibited the highest concentrations of herbal flavonoids (45.22 µg QE/mg extract) and total phenolics (28.96 µg GAE/mg extract). Branch extracts demonstrated significant enzymatic activity against AChE and BChE with IC₅₀ values of 37.26 mg/mL and 9.08 mg/mL respectively. The flower extract displayed notable antibacterial properties. This study sheds light on the therapeutic potential of *A. purpurascens* ethanol extracts, suggesting benefits for Alzheimer's, cell damage-induced diseases, and diabetes mellitus. It pioneers new enzymatic and antioxidant insights and contributes to understanding this abundant Türkiye species. *A. purpurascens* holds promise for pharmaceutical exploration, offering potential solutions for challenging health conditions.

Keywords:

- Alzheimer's disease
- Angelica purpurascens*
- Antibacterial
- Antioxidant
- α-Glycosidase
- Cholinesterase

¹Meryem TOPAL ([Orcid ID: 0000-0002-2107-8603](https://orcid.org/0000-0002-2107-8603)), Gumushane University, Vocational School of Health Services, Gumushane, Türkiye

²Fevzi TOPAL ([Orcid ID: 0000-0002-2443-2372](https://orcid.org/0000-0002-2443-2372)), Gumushane University, Department of Chemical and Chemical Processing Technologies, Laboratory Technology Program, Gumushane 29100, Türkiye. ³Gumushane University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Food Engineering, 29100 Gumushane, Türkiye.

³Fırat YILMAZ ([Orcid ID: 0000-0003-3633-0012](https://orcid.org/0000-0003-3633-0012)), Gumushane University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Food Engineering, 29100 Gumushane, Türkiye.

*Corresponding Author: Meryem TOPAL, e-mail: topalmeryem@hotmail.com

INTRODUCTION

Oxygen plays a crucial role in respiration, serving as the catalyst for the oxidation of organic substances and facilitating the combustion of materials like gas, coal, and wood. The primary source of oxygen is the free oxygen generated through photosynthesis, contributing to the atmosphere's average composition of 21% oxygen. Vital for the existence of living organisms, oxygen proves essential in sustaining life. Within our bodies, over 90% of oxygen is consumed by the electron transport chain, also known as the respiratory chain. This intricate process involves the reduction of molecular oxygen to water, utilizing electrons derived from NADH and FADH₂, byproducts of metabolic fuels such as glucose, fatty acids, and amino acid carbon skeletons. This reduction not only ensures the conversion of the potent oxidizing capability of oxygen molecules but also transforms it into the high-energy phosphate bond of ATP (Gülçin, 2020).

Despite its indispensability, oxygen's role in human life comes with a caveat. Reactive oxygen species (ROS), predominantly generated by free radicals, pose a potential threat by causing extensive damage during normal metabolic processes, as outlined by Gülçin et al. in 2011 (Gülçin et al., 2011). These ROS, exhibiting higher chemical reactivity than the standard oxygen molecule, underscore the delicate balance required to harness the benefits of oxygen while managing its potentially harmful consequences, as highlighted by Gülçin in 2020 (Gülçin, 2020; F. Topal, 2019b).

Free radicals are known as molecules with one or more unpaired electrons, short lifetime, unstable, low molecular weight and very active. In most cases, free radical generation is part of the pathomechanism. Prolonged exposure to certain environmental pollutants such as cadmium and lead can cause oxidative stress, which is undesirable in biological systems (M. Topal, Ozturk Sarıkaya, & Topal, 2021). Free radicals are molecules or ions that have unpaired electrons and are highly active and unstable to chemical reactions with other molecules (Gülçin, 2012).

In aerobic organisms, various defense mechanisms called "antioxidants" have developed in order to prevent the harmful effects of ROS together with the formation of free oxygen radicals (Halliwell, 1996). According to their structures, antioxidants are in the form of enzymes such as catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GSSG-Rd), vitamins and thiols. They are substances that prevent damage by free radicals to target biomolecules such as lipids, proteins, nucleic acids (Gülçin, 2006). The mechanisms of antioxidant action were first discovered when it was understood that a substance with an antioxidant effect had a high probability of spontaneous oxidation (Göçer, Akıncıoğlu, Öztaşkın, Göksu, & Gülçin, 2013).

AChE (E.C.3.1.1.7) is a crucial enzyme within the cholinesterase mily, contributing to nerve conduction by breaking down acetylcholine. Acetylcholinesterase, responsible for choline ester hydrolysis, is notably abundant in the brain, nerves, and red blood cells. Reduced AChE activity can lead to nervous system disorders and even death. Acetylcholine (ACh) serves as a significant substrate for acetylcholinesterase (Koçyiğit, 2018; M. Topal, 2019; Türkeş et al., 2021). A sudden decline in acetylcholine levels proves fatal, while a gradual decrease is associated with Alzheimer's disease (AD) (F. Topal, 2019c). The human brain, housing around 100 billion neurons, faces neurodegeneration in AD due to cell damage or death (F. Topal, 2019a; M. Topal, 2020).

BChE is prevalent in various tissues like the lung, brain, heart, liver, muscle, kidney, and body fluids such as serum, sweat, and cerebrospinal fluid (Demir & Türkan, 2022). Originating from the liver, BChE is a crucial enzyme capable of hydrolyzing or activating numerous compounds. Its synthesis in the liver makes BChE a marker of liver function in clinical studies. Both AChE and BChE play pivotal

roles in AD, a neurodegenerative ailment marked by cognitive impairment, memory decline, and personality changes (Bingöl et al., 2021; F. Topal, Gulcin, Dastan, & Guney, 2017; M. Topal, 2019).

Diabetes stands as a significant health concern, rooted in the insufficiency, deficiency, or ineffectiveness of insulin produced by pancreatic beta cells. In this condition, the body fails to convert energy into glucose, resulting in elevated glucose levels. The hormone insulin cannot adequately manage this glucose, leading to irregular releases (F. Topal, 2019c). The α -Glucosidase enzyme (E.C.3.2.1.20) localized on the small intestine's brush surface breaks down complex carbohydrates. Inhibitors of this enzyme indirectly assist in preventing hyperglycemia (M. Topal, 2019).

Angelica species belonging to the Apiaceae family are plants used medicinally in Western and Eastern countries. There are about 110 species of *Angelica*, which grows very widely in Europe and Asia in the northern hemisphere. Especially in China, Korea and Japan, *Angelica* species have been used for traditional medicinal purposes for thousands of years, and due to their therapeutic importance, biological and chemical researches on these plants are carried out today (Kim, Lim, & Lee, 2020).

Angelica purpurascens (Avé-Lall.) Gill (*A. Purpurascens*) is a synonym for *Xanthogalum purpurascens*, known as angelica in Türkiye. *A. purpurascens* is widely cultivated in Türkiye, especially in the Northeast Black Sea region. Although there are many studies on the literature review, the composition of essential oils and biological components, the data on the activities of *Angelica* species, essential oil composition and antioxidant activities of *A. purpurascens* are limited (Türkuçar, Karaçelik, & Karaköse, 2021).

Enzyme inhibition studies are very important in the diagnosis and treatment of many diseases. Since there is a need to identify natural and safe food antioxidant sources, especially those of plant origin, it is thought that our study will contribute to the literature. *A. purpurascens* is a common plant in Türkiye. No activity and antioxidant capacity have been studied in the literature on ethanol extracts of *A. purpurascens* plant. Several studies were conducted in solvents such as methanol and ethyl acetate. However, in these studies, the reduction capacity according to the Fe^{3+} - Fe^{2+} transformation method, Cu^{2+} - Cu^{+} reduction capacity according to the CUPRAC method, DMPD radical removal studies, enzyme inhibition studies were not examined, especially to determine the antioxidant capacity. Inhibition studies were conducted on AChE, BChE and α -Glycosidase enzymes, which are important for our metabolism, and the effects of these enzymes on metabolic diseases were discussed.

MATERIALS AND METHODS

Materials and methods

Preparation of plant extracts

The plant *A. purpurascens* was collected near Soğanlı in the Sarıkamış district of Kars. This plant species has not been determined before in this region. The people of this region define this plant as “wild kekire”. It was collected on 03/07/2021 at the 12th km of Sarıkamış. Herbarium number was determined as “F.Topal 2” in Erzincan Binali Yıldırım University Herbarium. The leaves, branches and flowers of the dried plant were mixed with ethyl alcohol and crushed in a blender. Afterwards, the mixture was filtered through cheesecloth and the remaining pulp was continued to be extracted again with ethyl alcohol under the same conditions. It will be filtered again through the cheesecloth. The extracts were then filtered through filter paper and the filtrates were taken into balloons. Ethyl alcohol was then removed by passing through the evaporator.

Fe³⁺-Fe²⁺ reduction capacity

To initiate the process, a solution was formulated and subsequently transferred to test tubes at various concentrations. Following this, each tube received 0.2 M phosphate buffer and 1% potassium ferricyanide before undergoing an incubation period. Subsequent to these steps, 10% TCA was introduced into the reaction mixture, and the final mixture had 0.1% FeCl₃ added. The resulting absorbance was then measured at 700 nm against a blank (Oyaizu, 1986).

Cu²⁺-Cu⁺ reduction capacity (CUPRAC method)

For the Cu²⁺-Cu⁺ reduction capacity (CUPRAC method), a modified procedure based on Apak et al.'s method was employed. CuCl₂, neocuprine solution, and CH₃COONH₄ buffer solution were successively added to tubes containing various concentrations of the prepared stock solution. After incubation, absorbance values were recorded at 450 nm against the blank (Apak, Güçlü, Özyürek, Esin Karademir, & Erçağ, 2006; Gülçin, 2009).

DPPH free radical removal activity

A 1 mM solution of DPPH· was used as a free radical. A stock solution of 1 mg/mL concentration, which was prepared before, was used as a sample. The stock DPPH solution was then added to each sample tube. After incubation, absorbance was measured at 517 nm versus blank (Blois, 1958).

ABTS radical removal activity

ABTS radical removal activity was determined according to Re et al.'s method. Initially, an ABTS solution was prepared, and ABTS radicals were generated by adding 2.45 nM persulfate solution to it. The sample, with varied concentrations, was exposed to ABTS addition and subsequent incubation, and absorbances at 734 nm against the blank were assessed (Re et al., 1999).

DMPD radical removal activity

DMPD radical removal activity, following Fogliano et al.'s method, involved obtaining the colored radical cation (DMPD⁺). Plant extracts and standard antioxidants were placed in test tubes at different concentrations, and DMPD⁺ solution was added. After incubation, absorbance values were measured at 505 nm ((Fogliano, Verde, Randazzo, & Ritieni, 1999).

Determination of total phenolic compound amount

Total phenolic compound amount determination utilized gallic acid as the standard. A standard graph was prepared from gallic acid, and plant extract stock solution was used. After being placed in a metric cup, the volume was adjusted to 23 mL with distilled water. Folin-Ciocalteu reagent and 2% Na₂CO₃ were introduced, and after mixing at room temperature, absorbance readings at 760 nm were recorded against a blank of pure water. The gallic acid equivalent (GAE) corresponding to the sample absorbance values was determined using the equation derived from the standard graph (Kalin, Gülçin, & Gören, 2015).

Determination of total flavonoid amount

Total flavonoid amount determination, as per Kalin et al.'s method, involved adding 1000 µg of extract to a vezine cup. The extracts, transferred to a test tube, were diluted with an ethanol solution containing CH₃COOK and 10% Al(NO₃)₃ solutions. After vortex mixing and incubation at room temperature, the absorbance at 415 nm was recorded, with quercetin serving as the standard for determining the total flavonoid concentration (Kalin et al., 2015).

α - Glycosidase enzyme study

In the α -glycosidase enzyme study, the activity of α -glycosidase enzyme was determined using *p*-NPG as the substrate, following Tao et al.'s previous procedures (Tao, Zhang, Cheng, & Wang, 2013). Absorbances were measured spectrophotometrically at 405 nm, and IC₅₀ values were calculated for each extract (Tao et al., 2013).

Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes studies

AChE, known for catalyzing the hydrolysis of acetylcholine and converting it into thiocholine and acetate, is a key enzyme in this process. In inhibition studies, DTNB is employed and reacts with thiocholine to produce a yellow compound, 5-thio-2-nitrobenzoic acid. The color intensity of this compound is measured at 412 nm. The absorbance at 412 nm for both blank and sample cuvettes is recorded after 5 minutes. Plant extracts' impact on acetylcholinesterase enzyme activity is examined, and the IC₅₀ value is calculated based on the data obtained (Ellman, Courtney, Andres Jr, & Featherstone, 1961).

In the study of the butyrylcholinesterase (BChE) enzyme, the inhibition effect of plant extracts is investigated using a procedure similar to the previously described AChE method. However, instead of Acetylthiocholine iodate, which serves as a substrate in the AChE method, butyrylthiocholine iodate is used as the substrate for the BChE enzyme (Özler, Topal, Topal, & Öztürk Sarıkaya, 2023).

Antibacterial activity

The disc diffusion method was performed according to (Matuschek, Brown, & Kahlmeter, 2014). All test microorganisms were obtained from Gümüşhane University Central Research Laboratory and antibacterial tests were carried out in the Food Engineering Laboratory. In the study, antibacterial activities of different parts of *Angelica purpurascens* were measured by disk diffusion method (Matuschek et al. 2014). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Salmonella typhimurium* ATCC 23566, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Aeromonas hydrophila* ATCC 35654 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were used as 6 type bacteria to determined the antibacterial activities of different part of *Angelica purpurascens*. 20 μ L extract was injected into sterile discs placed on Nutrient agar, and then petri dishes were incubated at 36 °C for 24 hours. At the end of the incubation time, It was determined by measuring the transparent areas formed around the discs.

RESULTS AND DISCUSSION

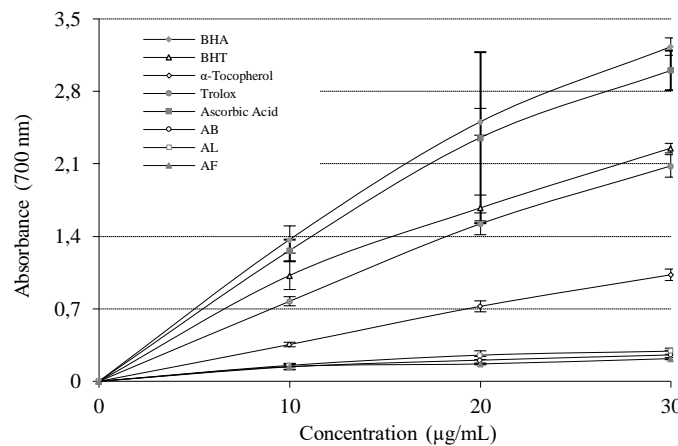
In the reduce ferric ions employed for antioxidant investigations, the test solution undergoes a transformation from yellow to various shades of green. This change is attributed to the reducing actions of antioxidant substances within the experimental setting (İnan Ergün & Topal, 2023). The reducing capacity of the ethyl alcohol extracts of the branches (AB), leaves (AL) and flowers (AF) of the *A. purpurascens* plant used in the study increases in direct proportion to the increasing concentration (Figure 1).

After plotting the capacity to reduce ferric ions (Fe³⁺) to ferrous ions (Fe²⁺) of the AB, AL and AF extracts (Figure 1), the absorbances corresponding to 20 μ g/mL of each standard antioxidant and plant extracts were given in Table 1 and compared with each other. High absorbance values indicate high reducing capacity.

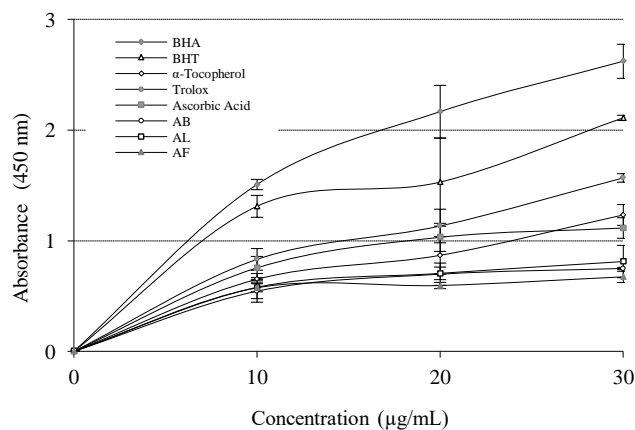
Table 1. Comparisons of the reducing capacities of ferric ions and cupric ions at 20 $\mu\text{g/mL}$ concentration

| Antioxidants | Fe ³⁺ Reduction (700 nm) | CUPRAC Method (450 nm) |
|---------------|--|---------------------------|
| BHA | 2.506 | 2.165 |
| BHT | 1.674 | 1.529 |
| Tocopherol | 0.724 | 0.867 |
| Trolox | 1.521 | 1.132 |
| Ascorbic acid | 2.353 | 1.030 |
| AB | 0.204 | 0.697 |
| AL | 0.252 | 0.705 |
| AF | 0.168 | 0.595 |

The comparison of the reducing forces of ferric ions with each other was determined as BHA > ascorbic acid > BHT > trolox > α -tocopherol > AL > AB > AF.

**Figure 1.** Comparison of Fe³⁺ reducing forces

It was found that the capacity to reduce cupric ions (Cu²⁺) of ethyl alcohol extracts of branches, leaves and flowers of *A. purpurascens* plant increased in direct proportion to its concentration. After drawing the cupric ion reduction graph of *A. purpurascens* extracts and standard antioxidants (Figure 2), the absorbance values corresponding to 20 $\mu\text{g/mL}$ for each standard antioxidant and *A. purpurascens* extracts were given in Table 1 and compared with each other.

**Figure 2.** Comparison of cupric ions reducing activities

When the cupric ion reducing activities of *A. purpurascens* extracts and standard antioxidants at its concentration at 20 $\mu\text{g/mL}$ are compared with each other: BHA > BHT > trolox > ascorbic acid > α -tocopherol > AL > AB > AF.

The DPPH free radical scavenging activity of AL, AB, AF and standard antioxidants increases in direct proportion to the concentration as seen in Figure 3.

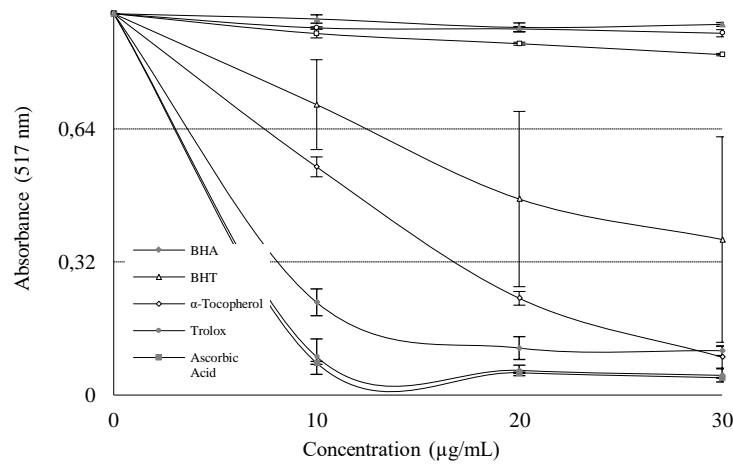


Figure 3. Comparison of DPPH free radical scavenging activities

A. purpurascens extracts and standard antioxidant molecules used showed DPPH free radical scavenging activity as follows, respectively: Ascorbic acid > Trolox > BHA > α -tocopherol > BHT > AL > AB > AF.

The % radical removal values of *A. purpurascens* extracts and each standard antioxidant were calculated and compared with three different methods at 20 μ g/mL concentration (Table 2).

Table 2. Comparison of DPPH \cdot , ABTS $^{+}$ and DMPD $^{+}$ % radical removal values

| Antioxidants | DPPH \cdot | ABTS $^{+}$ | DMPD $^{+}$ |
|---------------|--------------|-------------|-------------|
| BHA | 87.68 | 99.48 | 35.98 |
| BHT | 48.60 | 99.45 | * |
| Tocopherol | 74.63 | 94.87 | * |
| Trolox | 93.53 | 99.61 | 69.51 |
| Ascorbic acid | 94.15 | 99.32 | * |
| AB | 4.00 | 38.72 | 5.36 |
| AL | 7.85 | 50.69 | 12.32 |
| AF | 3.60 | 24.30 | 7.93 |

* Both standard antioxidant compounds do not show activity in the DMPD $^{+}$ removal method (Gülçin, 2020).

ABTS $^{+}$ removal activities of *A. purpurascens* extracts and standard antioxidants are as follows, respectively; Trolox > BHA > BHT > ascorbic acid > α -tocopherol > AL > AB > AF (Figure 4).

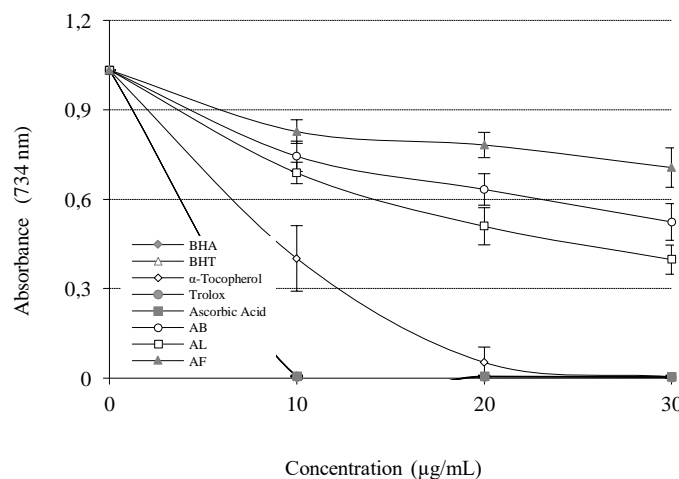


Figure 4. Comparison of ABTS $^{+}$ removal activities

The DMPD⁺ removal activity of *A. purpurascens* extracts and the standard antioxidant molecules used are as follows; Trolox > BHA > AL > AF > AB.

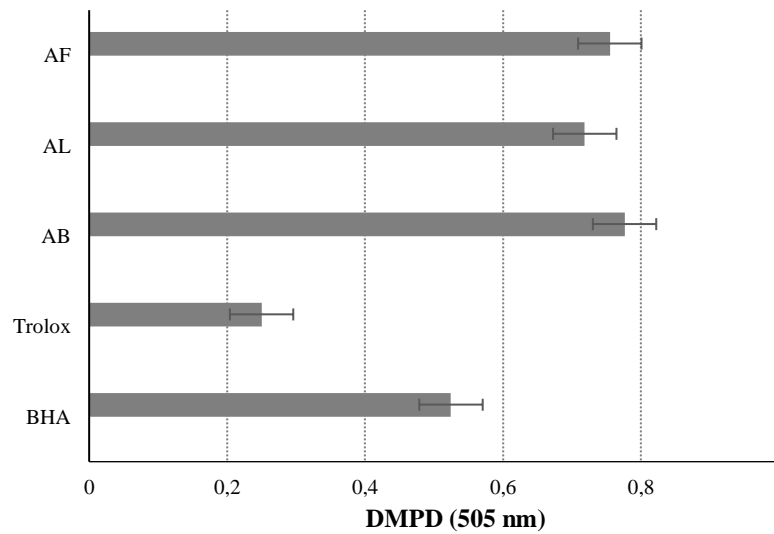


Figure 5. Comparison of absorbances of DMPD⁺ removal activities at 20 µg/mL concentration

Gallic acid was used as the standard phenolic compound for the determination of the total amount of phenolic compounds in *A. purpurascens* extracts. A standard graph was obtained. The total amount of phenolic compounds found in the ethyl alcohol extracts of the branches and leaves of the *A. purpurascens* plant was calculated as gallic acid equivalent (GAE) (r^2 : 0.9939). The standard gallic acid graph prepared for this purpose is given in Figure 6 (A)

Quercetin was used as a standard to determine the total amount of flavonoid compounds in *A. purpurascens* extracts. With the help of the equation obtained from the standard graph, the total flavonoid amount found for AL, AB and AF was calculated as quercetin equivalent (QE) (r^2 : 0.9898). The standard graphic prepared for this purpose is given in Figure 6 (B).

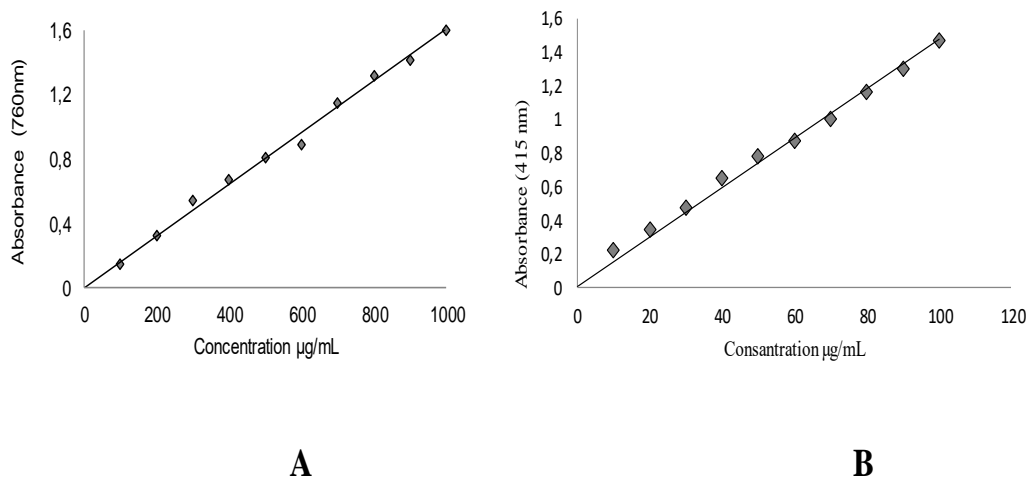


Figure 6. A) The standard graph prepared for the determination of the total amount of phenolic compounds amount B) The standart graph prepared for the determination of total flavonoid

Using the equation found, the total flavonoid and phenolic compounds in the extracts were calculated. The results are given in Table 3.

Table 3. The amount of total phenolic and total flavonoid compounds found in *A. purpurascens* plant extracts

| Extract | Total Phenolic ($\mu\text{g GAE/mg extract}$) | Total Flavonoid ($\mu\text{g QE/mg extract}$) |
|---------|--|--|
| AB | 26.25 | 28.96 |
| AL | 28.96 | 45.22 |
| AF | 19.79 | 17.14 |

The effect of *A. purpurascens* plant extracts for the AChE enzyme was examined. Activity (%) was plotted for AB, AL and AF. The mean IC_{50} value and mean r^2 values were calculated (Table 4).

Table 4. IC_{50} (mg/mL) and r^2 values of *A. purpurascens* plant extracts for the enzymes

| Enzymes | AChE | | BChE | | α -Glycosidase | |
|------------|------------------|--------|------------------|--------|-----------------------|--------|
| | IC_{50} | r^2 | IC_{50} | r^2 | IC_{50} | r^2 |
| Inhibitors | | | | | | |
| AB | 37.26 | 0.9978 | 9.08 | 0.9918 | 165.00 | 0.9809 |
| AL | 92.40 | 0.9917 | 22.87 | 0.9911 | 73.72 | 0.9459 |
| AF | 73.72 | 0.9899 | 9.97 | 0.9942 | 67.28 | 0.9796 |

The effect of *A. purpurascens* plant extracts for the BChE enzyme was examined. Activity (%) was plotted for AB, AL and AF. The mean IC_{50} value and mean r^2 values were calculated (Table 4).

The effect of *A. purpurascens* plant extracts for the α -glycosidase enzyme was examined. Activity (%) was plotted for AB, AL and AF. The mean IC_{50} value and mean r^2 values were calculated (Table 4).

Table 5. The antibacterial activity of part of Part of *A. Purpurascens* (zone mm in diameter)

| Bacteria | Flower | Leaf | Branch | Anova (p) |
|--|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 14.93 \pm 1.37 ^{B,b} | 12.63 \pm 1.10 ^{B,a} | 12.13 \pm 1.05 ^{A,a} | 0.002 |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634 | 12.75 \pm 0.52 ^{A,a} | 12.88 \pm 0.90 ^{B,a} | 11.95 \pm 1.11 ^{A,a} | 0.172 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 17.63 \pm 1.04 ^{C,b} | 12.50 \pm 1.18 ^{B,a} | 12.97 \pm 0.95 ^{A,a} | 0.000 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 23566 | 12.93 \pm 1.21 ^{A,b} | 10.13 \pm 0.57 ^{A,a} | 13.38 \pm 1.36 ^{A,b} | 0.000 |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 35654 | 15.62 \pm 1.67 ^{B,b} | 12.42 \pm 0.80 ^{B,a} | 12.77 \pm 2.12 ^{A,a} | 0.007 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | 16.35 \pm 1.48 ^{BC,b} | 14.58 \pm 1.78 ^{C,ab} | 12.67 \pm 2.09 ^{A,a} | 0.010 |
| Anova (p) | 0.000 | 0.000 | 0.608 | |

Samples showing capital letters (among bacteria type) and lower letters (among part of *A. purpurascens*) do differ significantly.

The results of part of *A. purpurascens* showing antimicrobial activity are given in Table 5. The antibacterial activities were determined mainly *A. purpurascens* flower. The flower of *A. Purpurascens* has the highest antibacterial activity against the *Escherichia coli* ATCC 25922 ($p < 0.001$). The branch of *A. purpurascens* was showed antibacterial activity against the bacteria type, but this property was observed statistical insignificant.

Maintaining a delicate equilibrium between reactive oxygen species (ROS) production and antioxidant defenses is crucial *in vivo*. Disrupting this balance in favor of ROS can lead to oxidative stress, triggered by factors such as inadequate antioxidant diets, insufficient synthesis of metal ion-binding proteins from dietary proteins, excessive production of O_2^{\cdot} and H_2O_2 in metabolism, exposure to drugs or toxins metabolizing into free radicals, and overactivation of radical-producing systems like phagocytes in chronic inflammatory diseases (Gülçin et al., 2012; Halliwell, 1996).

Fats, particularly lipid-based foods, are susceptible to degradation through heating and prolonged storage, resulting in diminished nutritional value and sensory quality. The prevention of these oxidation processes is paramount throughout the food chain, from producers to consumers. Effective mechanisms include restricting oxygen access, utilizing lower temperatures, inactivating oxidation-catalyzing enzymes, reducing oxygen pressure, and employing suitable packaging. Chemical protection against

oxidation involves the use of antioxidants, additives that hinder the formation of lipid free radicals or stabilize lipid hydroperoxides. Some substances known as synergists enhance the activity of antioxidants, reducing free radical content (Yen & Chen, 1995).

While cells can generally handle mild oxidative stress by adjusting antioxidant defense systems, severe oxidative stress leads to DNA damage, elevated intracellular free Ca^{2+} and iron, and protein damage, ultimately causing cell injury and death (Halliwell, 1996). Oxidative stress is often a secondary factor in human diseases but remains significant; for instance, it contributes to atherosclerosis development and is linked to conditions like rheumatoid arthritis, inflammatory bowel diseases, and Parkinson's disease (Göçer et al., 2013; Gülçin & Alwasel, 2023).

Studies highlight the preventive potential of dietary changes, such as reducing fat intake and increasing fruit, grain, and vegetable consumption, against cardiovascular disease and cancer. Since endogenous antioxidant defenses aren't entirely efficient, dietary natural antioxidants play a crucial role in mitigating cumulative oxidative damage over a human lifespan. DNA damage by reactive nitrogen species (RNS) and ROS contributes to age-related cancer development, emphasizing the importance of dietary natural antioxidants. Herbal antioxidants, observed in both *in vivo* and *in vitro* studies as anticancer agents, gained renewed interest due to concerns about toxic effects associated with synthetic antioxidants (Durmaz et al., 2022; M. Topal & Gulcin, 2022).

Methods to measure oxidative damage to DNA, proteins, and lipids in the human body provide insights into optimal nutrient intake. Antioxidants, obtained through diet or metabolic synthesis, have the potential to delay major cancer and vascular diseases, offering significant social and economic benefits (Durmaz et al., 2022).

Antioxidants contribute to an improved quality of life by reducing cell destruction and tumor formation. Various food categories, including fruits, spices, vegetables, proteins, herbs, teas, oils, seeds, and grains, contain antioxidants. As interest in natural antioxidants rises, herbal antioxidants also gain prominence (Gülçin, 2020).

Methods such as DPPH, ABTS⁺⁺, and DMPD⁺⁺ serve as effective ways to assess the antioxidant capacity of food products (Öztürk Sarıkaya, 2015). In antioxidant studies in plants, they react with DPPH radicals and donate protons. The results are calculated graphically by measuring the absorbance value in the color change. In the study, plant extracts showed lower DPPH removal activity than antioxidants used as standard. According to this; Ascorbic acid > Trolox > BHA > α -tocopherol > BHT > AL > AB > AF.

The % DPPH radical scavenging activities were calculated as 11.6% and 32.7%, respectively, in the study performed on both water and methanol extract of *Achillea schischkinii* plant, which was determined as an antioxidant plant. ABTS radical removal activity of the same plant was calculated as 25.1% for water extract and 28.4% for methanol extract (Türkan, Atalar, Aras, Gülçin, & Bursal, 2020). In this study, ABTS radical removal activity % was calculated for AB (38.72%), AL (50.69%) and AF (24.30%). *Achillea schischkinii* plant extracts were found to have more effective removal activity than plant extracts. ABTS radical scavenging activity is more preferred for herbal antioxidant molecules. It is widely used because it can be dissolved in both polar and nonpolar solvents, is not affected by ionic strength, and can be worked in a wide pH range (Gülçin et al., 2012). ABTS radical scavenging activity is applied in a short time, and it exhibits activity with electron transfer as well as hydrogen transfer are among the advantages of the method (M. Topal & Gulcin, 2022).

The disadvantage of the DMPD⁺ removal activity method is that it cannot be applied to hydrophobic antioxidants. For this reason, not all standard antioxidants are used. The % DMPD radical removal activities are listed as Trolox > BHA > ascorbic acid > AL > AB.

AB, AF and AL extracts, whose total phenolic and total flavonoid compound amounts were determined, showed higher results especially AL than the others. Especially with the total flavonoid content of 45.22 µg QE/mg extract, a significantly higher amount was obtained than the other extracts. It was shown by the absorbances that AL had higher reduction in the reducing capacities of the ferric ions (0.252) and cupric ions (0.705) produced than the other extracts.

Flavonoids contain a group of polyphenolic compounds in plants. Antioxidant effects are at the forefront of the biological properties of flavonoids. Flavonoids are antioxidant molecules with metal chelating, free radical scavenging and lipid peroxidation inhibition properties. Flavonoid compounds also have a protective effect against oxidation of low density lipoproteins (LDL) and coronary heart diseases (Kızıldaş et al., 2021; Saija et al., 1998).

AD, the leading cause of dementia, is a fatal, debilitating, neurodegenerative disease that is pathologically characterized by progressive neuronal loss and biochemical abnormalities including extracellular amyloid beta (Aβ) plaque accumulation, hyperphosphorylated tau, and mitochondrial dysfunction. Clinically, AD is characterized by memory and cognitive deficits that impair a person's ability to independently perform activities of daily living. AD, which has only limited symptomatic treatment options for which there is no cure, affects many people rapidly and continues to impose a significant burden on our society with its high care costs (Ashleigh, Swerdlow, & Beal, 2023).

During the life cycle of mitochondria, it plays an important role in meeting the physiological needs of eukaryotic cells, maintaining mitochondrial biogenesis and mitochondrial homeostasis. In AD, decreased enzymatic activity of the Krebs cycle, ATP production, respiratory chain activity, and increased levels of free radicals and ROS affect decreased mitochondrial bioenergetic function (Maruszak & Żekanowski, 2011).

This suggests that mitochondrial dysfunction accompanies aging and age-related neurodegenerative disorders. Numerous studies show defects in mitochondrial function as an early event in the course of AD. The brain is particularly vulnerable to free radical attack for several reasons. When the level of free radicals exceeds the cellular antioxidant defense system, oxidative stress occurs. It has relatively low antioxidant protection when exposed to high oxygen concentrations, as well as high levels of membrane polyunsaturated fatty acids, high concentration of iron and ascorbate (Moreira et al., 2005).

On the other hand, DM is associated with the development of cognitive impairment due to its vascular and neurodegenerative effects. AD, the most common neurodegenerative disorder, is characterized by the presence of various pathological signs, including neuronal loss, the formation of senile plaques in the brain consisting of extracellular amyloid beta (Aβ) deposits. Insulin resistance, one of the main components of type 2 diabetes, is a known risk factor for AD (Li, Cesari, Liu, Dong, & Vellas, 2017; Türkeş et al., 2021).

The genetic structures of AChE and BChE enzymes are common enzymes, with an average of 54% similar amino acid sequences. There are significant differences in active regions. Therefore, they may exhibit different inhibition effects. While AChE has 14 aromatic amino acid residues, BChE has 8 aromatic and 6 aliphatic residues (M. Topal, 2019). In the study, it was observed that the IC₅₀ values of the BChE enzyme had lower values than the AChE enzyme. It is thought that the ratios in the IC₅₀ values in between are due to the active difference of both enzymes.

In the study performed on water and methanol extracts of *Salvia eriophora* plant, IC₅₀ values for acetylcholinesterase enzyme were calculated as 15.06 and 9.91 µg/mL, respectively. The IC₅₀ values obtained for the BChE enzyme of the same plant were 10.82 µg/mL for the water extract, while the methanol extract was calculated as 5.17 µg/mL. The α-Glycosidase enzyme was calculated as 5.54 µg/mL in water extract and 2.94 µg/mL in methanol extract (Bursal et al., 2019). As seen in the literature, multicomplex interactions are observed by evaluating enzyme inhibitions on different extracts of plants.

The most effective IC₅₀ value for AChE enzyme was obtained in AB extract (37.26 µg/mL), and for BChE enzyme, the most effective IC₅₀ value was obtained in AB (9.08 µg/mL) extract. The results are given in Table 4.

However, when the α-Glycosidase enzyme activity was examined, the IC₅₀ value was obtained in AF (67.28 µg/mL) extract, unlike cholinesterases. This shows that it is important to examine the whole plant while observing the multicomplex effects of natural products.

Excessive production of free radicals leads to the depletion of the body's antioxidant system. It reveals a reduction in the antioxidant enzymatic barrier, which is reflected by the reduction of the specific activity of the main antioxidant enzymes. It has been found that there is an increase in ROS production in AD, which causes depletion of too many antioxidants. The ability of antioxidant systems is reduced to protect the body against oxidative attack (Bhatia & Sharma, 2021).

As the result of the antibacterial activities, it was determined flower, leaf and branch of *A. purpurascens* show antibacterial against the gram-positive and gram-negative bacteria. In this study, it was determined that the antibacterial effect of the flower part was higher than the other parts. As a matter of fact, similar results have been found by some researchers. (Park et al., 2022) reported that the *A. gigas* flower had an antibacterial effect on *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. However, in other studies, it has been stated that different species of the *Angelica* plant have antibacterial effects on pathogenic bacteria (Aćimović et al., 2017; Chunchao Han & Guo, 2012; Krishnaraj, Young, & Yun, 2022).

In this case, natural antioxidant intake becomes important to protect the body. In this study, it was presented that plant extracts of *A. purpurascens*, an endemic species, are also effective on natural antioxidant and metabolic enzymes.

CONCLUSION

Oxidative stress and mitochondrial dysfunction are evident during aging and in conditions like Alzheimer's disease (AD). Various age- and lifestyle-related factors such as hypertension, traumatic brain injury, diabetes mellitus (DM), hypercholesterolemia, hyperhomocysteinemia, high calorie intake, smoking, and lack of exercise contribute to increased oxidative stress and AD risk. Conversely, factors that support the neuronal system, including recognized free radical scavengers such as vitamin C and E, estrogen, non-steroidal anti-inflammatory drugs, statins, and calorie restriction, offer protective effects against AD. Natural antioxidant compounds also play a role in this protective system (Sharma & Mehdi, 2023; Singh, Mahajan, Kumar, Singh, & Chowdhary, 2023).

Angelica purpurascens, specifically its flower part, exhibits significant antibacterial activity. Future research should explore flowers of different *Angelica* species for their antibacterial properties. Our study on the endemic species *A. purpurascens* reveals natural antioxidant properties and effective inhibition of enzymes like AChE, BChE, and α-Glycosidase. This plant shows promise in pharmacology, alternative medicine, and the pharmaceutical industry.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study has been supported by Gümüşhane University Scientific Research Projects Coordination Department (Project No: 22.B0225.02.01).

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Aćimović, M. G., Pavlović, S. Đ., Varga, A. O., Filipović, V. M., Cvetković, M. T., Stanković, J. M., & Čabarkapa, a. I. S. (2017). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Angelica archangelica* Root Essential Oil. *Natural Product Communications*, 12(2), 205-206.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., & Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(5-6), 292-304.
- Ashleigh, T., Swerdlow, R. H., & Beal, M. F. (2023). The role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease pathogenesis. *Alzheimer's & Dementia*, 19(1), 333-342.
- Bhatia, V., & Sharma, S. (2021). Role of mitochondrial dysfunction, oxidative stress and autophagy in progression of Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 421, 117253.
- Bingöl, Z., Kızıldaş, H., Gören, A. C., Kose, L. P., Topal, M., Durmaz, L., . . . Gulcin, I. (2021). Antidiabetic, anticholinergic and antioxidant activities of aerial parts of shaggy bindweed (*Convolvulus betonicifolia* Miller subsp.)-profiling of phenolic compounds by LC-HRMS. *Heliyon*, 7(5), e06986.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Taslimi, P., Gören, A. C., & Gülçin, İ. (2019). Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase, α -amylase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes. *Journal of Food Biochemistry*, 43(3), e12776.
- Chunchao Han, C., & Guo, J. (2012). Antibacterial and Anti-inflammatory Activity of Traditional Chinese Herb Pairs, *Angelica sinensis* and *Sophora flavescens*. *Inflammation*, 35(3).
- Demir, Z., & Türkan, F. (2022). Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz Enzimlerinin Alzheimer Hastalığı ile İlişkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(4), 2386-2395.
- Durmaz, L., Kiziltas, H., Guven, L., Karagecili, H., Alwasel, S., & Gulcin, İ. (2022). Antioxidant, antidiabetic, anticholinergic, and antiglaucoma effects of magnofluorine. *Molecules*, 27(18), 5902.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., & Ritieni, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 1035-1040.
- Göçer, H., Akıncıoğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., & Gülçin, İ. (2013). Synthesis, Antioxidant, and Antiacetylcholinesterase Activities of Sulfonamide Derivatives of Dopamine-Related Compounds. *Archiv der pharmazie*, 346(11), 783-792.
- Gülçin, İ. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences*, 78(8), 803-811.
- Gülçin, İ. (2009). Antioxidant activity of L-adrenaline: A structure-activity insight. *Chemico-Biological Interactions*, 179(2-3), 71-80.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.

- Gülçin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gülçin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Topal, F., Gagua, N., Bakuridze, A., Bayram, R., & Gepdiremen, A. (2012). Apoptotic, antioxidant and antiradical effects of majdine and isomajdine from *Vinca herbacea* Waldst. and kit. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(4), 587-594.
- Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Bilsel, M., Gören, A. C., & Erdogan, U. (2011). Pomological features, nutritional quality, polyphenol content analysis, and antioxidant properties of domesticated and 3 wild ecotype forms of raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Food Science*, 76(4), C585-C593.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16(1), 33-50.
- İnan Ergün, A., & Topal, M. (2023). Determination of the Antioxidant Capacity of Puerarin and Its Effect on Cholinesterases by *in vitro* and *in silico* Methods. *ChemistrySelect*, 8(41), e202302751.
- Kalın, P., Gülçin, İ., & Gören, A. C. (2015). Antioxidant activity and polyphenol content of cranberries (*Vaccinium macrocarpon*). *Records of Natural Products*, 9(4), 496.
- Kim, K., Lim, C. E., & Lee, B. Y. (2020). The complete chloroplast genome sequence of *Peucedanum chujaense* (Apiaceae), an endemic species to Korea. *Mitochondrial DNA Part B*, 5(2), 1937-1938.
- Kızıltaş, H., Bingöl, Z., Gören, A. C., Kose, L. P., Durmaz, L., Topal, F., . . . Gülçin, İ. (2021). LC-HRMS profiling and antidiabetic, anticholinergic, and antioxidant activities of aerial parts of kinkor (*Ferulago stellata*). *Molecules*, 26(9), 2469.
- Koçyiğit, Ü. M. (2018). Investigation of Inhibition Effect of Oxytocin on Carbonic Anhydrase and Acetylcholinesterase Enzymes in the Heart Tissues of Rats. *Journal of the Institute of Science & Technology/Fen Bilimleri Estitüsü Dergisi*, 8(1).
- Krishnaraj, C., Young, G. M., & Yun, S. (2022). In vitro embryotoxicity and mode of antibacterial mechanistic study of gold and copper nanoparticles synthesized from *Angelica keiskei* (Miq.) Koidz. leaves extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 2552-2563.
- Li, J., Cesari, M., Liu, F., Dong, B., & Vellas, B. (2017). Effects of diabetes mellitus on cognitive decline in patients with Alzheimer disease: a systematic review. *Canadian Journal of Diabetes*, 41(1), 114-119.
- Maruszak, A., & Żekanowski, C. (2011). Mitochondrial dysfunction and Alzheimer's disease. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(2), 320-330.
- Matuschek, E., Brown, D. F. J., & Kahlemeter, G. (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 20, 255-266.
- Moreira, P. I., Smith, M. A., Zhu, X., Nunomura, A., Castellani, R. J., & Perry, G. (2005). Oxidative stress and neurodegeneration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043(1), 545-552.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.
- Özler, E., Topal, F., Topal, M., & Öztürk Sarıkaya, S. B. (2023). LC-HRMS Profiling and Phenolic Content, Cholinesterase, and Antioxidant Activities of *Terminalia citrina*. *Chemistry & Biodiversity*, e202201250.
- Öztürk Sarıkaya, S. B. (2015). Acetylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant properties of pyrogallol. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30(5), 761-766.
- Park, C. H., Park, H. W., Yeo, H. J., Jung, D. H., Jeon, K. S., Kim, T. J., Park, S. U. (2022). Combined transcriptome and metabolome analysis and evaluation of antioxidant and antibacterial activities in white, pink, and violet flowers of *Angelica gigas*. *Industrial Crops & Products*, 188, 115605.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

- Saija, A., Trombetta, D., Tomaino, A., Cascio, R. L., Princi, P., Uccella, N., . . . Castelli, F. (1998). In vitro evaluation of the antioxidant activity and biomembrane interaction of the plant phenols oleuropein and hydroxytyrosol. *International Journal of Pharmaceutics*, 166(2), 123-133.
- Sharma, V., & Mehdi, M. M. (2023). Oxidative stress, inflammation and hormesis: The role of dietary and lifestyle modifications on aging. *Neurochemistry International*, 105490.
- Singh, S., Mahajan, M., Kumar, D., Singh, K., & Chowdhary, M. (2023). An inclusive study of recent advancements in Alzheimer's disease: A comprehensive review. *Neuropeptides*, 102369.
- Tao, Y., Zhang, Y., Cheng, Y., & Wang, Y. (2013). Rapid screening and identification of α -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR. *Biomedical Chromatography*, 27(2), 148-155.
- Topal, F. (2019a). Anticholinergic and antidiabetic effects of isoeugenol from clove (*Eugenia caryophyllata*) oil. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 583-592.
- Topal, F. (2019b). Determination of antioxidant capacity of 2, 6-quinolinediol. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(3), 1520-1527.
- Topal, F. (2019c). Inhibition profiles of Voriconazole against acetylcholinesterase, α -glucosidase, and human carbonic anhydrase I and II isoenzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(10), e22385.
- Topal, F., Gulcin, I., Dastan, A., & Guney, M. (2017). Novel eugenol derivatives: Potent acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 845-851.
- Topal, M. (2019). The inhibition profile of sesamol against α -glucosidase and acetylcholinesterase enzymes. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1527-1535.
- Topal, M. (2020). Secondary metabolites of ethanol extracts of pinus sylvestris cones from eastern anatolia and their antioxidant, cholinesterase and α -glucosidase activities. *Records of Natural Products*, 14, 129-138.
- Topal, M., & Gulcin, İ. (2022). Evaluation of the in vitro antioxidant, antidiabetic and anticholinergic properties of rosmarinic acid from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43, 102417.
- Topal, M., Ozturk Sarıkaya, S. B., & Topal, F. (2021). Determination of *Angelica archangelica*'s Antioxidant Capacity and Mineral Content. *ChemistrySelect*, 6(31), 7976-7980.
- Türkan, F., Atalar, M. N., Aras, A., Gülçin, İ., & Bursal, E. (2020). ICP-MS and HPLC analyses, enzyme inhibition and antioxidant potential of *Achillea schischkinii* Sosn. *Bioorganic Chemistry*, 94, 103333.
- Türkeş, C., Akocak, S., Işık, M., Lolak, N., Taslimi, P., Durgun, M., . . . Beydemir, Ş. (2021). Novel inhibitors with sulfamethazine backbone: synthesis and biological study of multi-target cholinesterases and α -glucosidase inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-13.
- Türkuçar, S. A., Karaçelik, A. A., & Karaköse, M. (2021). Phenolic compounds, essential oil composition, and antioxidant activity of *Angelica purpurascens* (Ave-Lall.) Gill. *Turkish Journal of Chemistry*, 45(3), 956-966.
- Yen, G.-C., & Chen, H.-Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 27-32.

Atıf İçin: Açıkgöz, G. (2024). Ev Yapımı Alkollü İçeceklerde Etanolün Tespitinde Raman Spektroskopisi ve Temel Bileşenler Analizi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 805-811.

To Cite: Açıkgöz, G. (2024). Raman Spectroscopy and Principal Components Analysis in The Qualitative Detection of Ethanol in Homemade Alcoholic Beverages. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 805-811.

Ev Yapımı Alkollü İçeceklerde Etanolün Kalitatif Tespitinde Raman Spektroskopisi ve Temel Bileşenler Analizi

Güneş AÇIKGÖZ

Öne Çıkanlar:

- Boğma Rakılarda etanol kalitatif olarak incelendi.
- Raman Spektroskopisi kullanıldı.
- PCA metodu kullanıldı.

Anahtar Kelimeler:

- Raman Spektroskopisi
- Alkollü içecekler
- Temel Bileşenler Analizi

ÖZET:

Etanol içeren alkollü ve gazlı içeceklerin fazla miktarda etanol tüketimi, muhakeme yeteneğinin bozulmasına, bilinç kaybına, komaya ve hatta ölüme neden olmaktadır. Çalışmada, Türkiye'ye özgü bir alkollü içecek olan Boğma Rakı'daki etanolün Raman Spektroskopisi ve Temel Bileşenler Analizi (PCA) metodu ile kalitatif analizi amaçlanmıştır. Farklı koşullarda üretimi yapıldığı bilinen Boğma Rakı numunelerinde (22 adet) bulunan etanole ait spesifik bantlar, Raman spektroskopisi kullanılarak incelendi. Elde edilen verilere PCA metodunun uygulanması için OriginPro 2022 programı kullanıldı. Çalışmada, 100-1600 1/cm aralığında etanole ait en belirgin bandın 883 1/cm'de olduğu gözlemlendi. Numunelerin sınıflandırılması amacıyla kullanılan PCA metodu sonucunda iki tane PCs (Principal Components) değeri elde edildi. Toplam PC1 değeri %95.22 ve toplam PC2 değeri ise %4.64 olarak elde edildi ve bu değerlerin toplamının veri setinin toplam varyansının %99.86'sını oluşturduğu görüldü. Elde edilen PC1 ve PC2 değerlerinin numunelerin etanol ile ilgili olduğu saptandı. Alkollü içeceklerin Raman spektroskopisi incelenmesinin ve elde edilen verilere kemometrik metotların uygulanması, alkollü içeceklerde bulunan etanolün tespitinde etkili olduğu görüldü. Çalışmada, Raman spektroskopisinin PCA metodu ile kombinasyonunun kaçak veya yasal olmayan yollarla üretilen alkollü içeceklerdeki bileşenlerin kontrolünde tarama yöntemi olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Raman Spectroscopy and Principal Components Analysis in The Qualitative Detection of Ethanol in Homemade Alcoholic Beverages

Highlights:

- Ethanol was examined qualitatively in Boğma Rakı.
- Raman Spectroscopy was used.
- PCA method was used.

Keywords:

- Raman Spectroscopy
- Alcoholic beverages
- Principal Components Analysis

ABSTRACT:

Excessive consumption of alcoholic and carbonated beverages containing ethanol can lead to impaired judgment, loss of consciousness, coma and even death. The aim of the study was to qualitatively analyze the ethanol in Boğma Rakı samples, an alcoholic beverage specific to Turkey, using Raman Spectroscopy and Principal Components Analysis (PCA) method. Boğma Rakı samples (22 pieces), which are known to have been produced under different conditions, were examined with Raman spectroscopy to determine specific bands of ethanol. OriginPro 2022 program was used to apply the PCA method to the data obtained. In the study, it was observed that the most prominent band belonging to ethanol was at 883 1/cm in the range of 100-1600 1/cm. Two PCs (Principal Components) values were obtained as a result of the PCA method used to classify the samples. The total PC1 value was 95.22% and the total PC2 value was 4.64%, and it was seen that the sum of these values constituted 99.86% of the total variance of the data set. It was determined that the obtained PC1 and PC2 values were related to the ethanol of the samples. It has been shown that examining Raman spectroscopy of alcoholic beverages and applying chemometric methods to the data obtained is effective in detecting ethanol in alcoholic beverages. The study concluded that the combination of Raman spectroscopy with the PCA method can be used as a screening method in the control of components in legally or illegally produced alcoholic beverages.

Güneş AÇIKGÖZ ([Orcid ID: 0000-0001-9118-3153](https://orcid.org/0000-0001-9118-3153)), Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Hatay, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Güneş AÇIKGÖZ, e-mail: gunesboraacikgoz@gmail.com

GİRİŞ

Alkollü içecek, tahılların, meyvelerin ve diğer nişastaların fermantasyonu ile üretilen, etanol içeren bir içecektir. Birçok toplumun sosyo-kültürel geleneğinde alkollü içeceklerin tüketimi önemli bir rol oynamaktadır (Arslan ve ark., 2021). Etanolün kullanımı sadece alkollü içeceklerle sınırlı değildir. Etanol, protein hidrasyonu ve biyomoleküler yapıların kendiliğinden birleşmesi gibi ürünlerde ve endüstriyel ortamlardaki biyolojik, biyokimyasal ve kimyasal işlemlerde de sıklıkla kullanılır (Sanyacharernkul ve ark., 2023).

Alkollü içeceklerin matrisi, tümü içeceğin tipik duyuşal özelliklerine katkıda bulunan etanol, su, şekerler, organik asitler, protein, peptidler, fenolikler ve uçucu aromatik bileşiklerin karmaşık bir karışımıdır (Arslan ve ark., 2021). Alkollü içeceklerde gıda katkı maddeleri ve gıda renklendiricileri, toksinler, ağır metal gibi zararlı maddelerin bulunması ve bu maddelerin vücutta birikmesi insan sağlığını olumsuz olarak etkileyebilmektedir (Li ve ark., 2022). Alkollü içeceklerin mevzuata uygun bir şekilde üretilmemesi ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır. Bu nedenle, alkollü içeceklerin içeriğinde bulunan etanol, metanol veya izopropanol gibi maddelerin ele alınması gerekmektedir. Etanol gibi alkoller, küçük molekül ağırlıkları ve amfifilik karakterlerinden dolayı merkezi sinir sistemine hızla dağılırlar ve bireyler üzerinde istenmeyen etkilere yol açarlar. Alkollü içecekler yoluyla az miktarda etanol tüketimi sorun oluşturmayabilir ancak daha büyük miktarlarda etanol tüketiminin muhakeme yeteneğinin bozulmasına, bilinç kaybına, komaya ve hatta ölüme neden olması mümkündür (Papaspyridakou ve ark., 2023).

Kayıt dışı alkol, tüketildiği ülkede farklı kategorilerde sınıflandırılmaktadır. “Yasa dışı olarak üretilen veya kaçakçılığı yapılan alkol ürünleri (yasadışı ev yapımı alkol dahil), yasal ancak kayıt dışı alkol ürünleri (ev yapımı veya diğer)” kategorilerinde belirtildiği ev yapımı alkollerin kayıt dışı alkol olduğu belirtilmektedir (Lachenmeier ve Rehm, 2009). Türkiye’ye özgü alkollü bir içecek olan Boğma Rakı, ev yapımı geleneksel yöntemlerle de üretilebildiğinden dolayı içerikleri hem birbirlerinden hem de diğer yasal alkollü içeceklerden farklıdır (Çevik ve ark., 2015).

Alkollü içeceklerin analizinde gaz kromatografisi gibi farklı yöntemlerin kullanılmasına karşın bu yöntemler nispeten pahalı, zaman alıcı olduğundan, son yıllarda Raman Spektroskopisi analitik bir metot olarak çok az numune hazırlama gerektirmesi veya hiç numune hazırlama gerektirmemesi, nispeten düşük maliyeti, hızlılığı ve tek taramadan birden fazla analiz yapabilme yeteneği nedeniyle popülerlik kazanmaktadır. Raman spektroskopisi ile elde edilen spektral veriler incelenen numunenin içeriği hakkında parmak izi görevi görerek numunelerin tanımlanması, karakterizasyonu ve kalite kontrolü için kalitatif ve kantitatif olarak kullanılan bir cihazdır (Smith ve Dent, 2005; Okolo ve ark., 2023). Elektromanyetik radyasyonun kullanıldığı Raman Spektroskopisinde incelenen numunelerin kimyasal yapıları ve fiziksel oluşumları hakkında bilgi elde edilebilmektedir. Raman spektroskopisi toksikoloji, adli tıp, mikrobiyoloji ve daha birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Raman spektroskopisinin farklı alanlarda yaygın bir şekilde kullanılması hem teknik gelişmesine hem de elde edilen verilerin kemometrik tekniklerle daha kolay bir şekilde yorumlanmasına bağlıdır (Guo ve ark., 2020). Dolayısıyla kemometrik metotlar, oluşturulan spektral verilerden ilgili bilgileri çıkararak bu tür analitik incelemeleri tamamlamaktadır (Okolo ve ark., 2023).

Kemometrik metotlar, kısmi en küçük kareler diskriminant analizi (PLS-DA) gibi denetimli metotlar ve temel bileşenler analizi (PCA) gibi denetimsiz metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Spektral verilerdeki grup yapısı hakkında ön bilgi gerektiren PLS-DA metodunun aksine, PCA metodu bunu gerektirmez, bunun yerine gruplandırmanın kendisini üretir. PCA metodunun kullanılması analitik

teknikleri örüntü tanıma yöntemleriyle birleştirilmesinde, numune farklılaştırma ve sınıflandırmada temel olmuştur.

Yapılan çalışmada, Türkiye'ye özgü alkollü bir içecek olan Boğma Rakı'daki etanolün Raman Spektroskopisi ile kalitatif analizinin PCA metodu kullanılarak yapılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Numuneler

Etanol (%99.9 v/v, Sigma-Aldrich) ve farklı üretim özelliklerine sahip olduğu bilinen 22 farklı Boğma Rakı (ev yapımı) numunesi kullanıldı. Ayrıca, bu numunelerin Hatay ilinde bir kısım insanların kendi imkanlarıyla yapıp tükettiği ve ticari olarak serbest piyasada bulunmayan bir tür alkollü içki olduğu bilinmekteydi. Elde edilen Boğma Rakı numunelerinden bir tanesine %25 (v/v) oranında etanol eklenerek karşılaştırma yapılması amacıyla bir numune hazırlandı. Elde edilen numuneler ve etanol kapaklı kuvars küvetlerde incelendi.

Raman spektroskopisi

Raman spektrumları, 785 nm lazer ve Charge-Coupled Device (CCD) dedektörü ile Renishaw in Via Raman Spektroskopisi kullanılarak elde edildi. Tüm spektrumlar, 100-1600 1/cm spektral bölgede, 15 saniyelik birikim süresi, 10 mW lazer gücü ve 1 saniyelik expojur süresi ile elde edildi. 2700–3600 1/cm'deki Raman bantları (OH titreşimi) numunelerin su içeriği ile ilişkili olduğundan dolayı incelemeye dahil edilmedi. Ek olarak, X50L uzun menzilli objektifle spektrumlar elde edildi. Tüm ölçümler aynı parametrelerle yapıldı.

Veri analizi

Çalışmada denetimsiz istatistiksel yöntemlerden biri olan ve sınıflandırma amacıyla kullanılan kemometrik metotlardan biri olan PCA metodu kullanıldı ve temel bileşenler (PCs) tahmin edildi. Bileşenlerin yorumlanmasında PC1 (Principal Component 1) ve PC2 (Principal Component 2) değerleri kullanıldı. Tüm veri işleme ve PCA metodu, veri analiz yazılımı programlarından biri olan OriginPro 2022 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, United States) kullanılarak gerçekleştirildi ve elde edilen bulgular karşılaştırıldı.

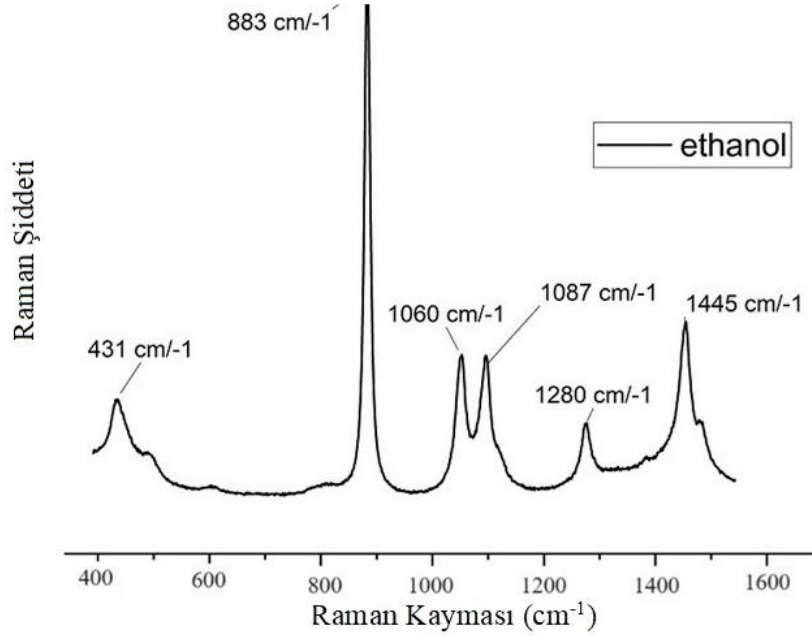
BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada, farklı üretim koşullarında üretildiği bilinen toplam 22 tane Boğma Rakı ve etanole ait Raman spektrumları alındı. Karşılaştırma amacı ile etanol eklenerek hazırlanan Boğma Rakı numunesi ve Boğma Rakı numunelerinden elde edilen piklerin etanol pikleriyle aynı olduğu gözlemlendi. Boğma rakı numunelerinde etanol piklerine benzer piklerin yanı sıra içeriğinde bulunan maddelerden dolayı da farklı Raman bantlarının olduğu gözlemlendi.

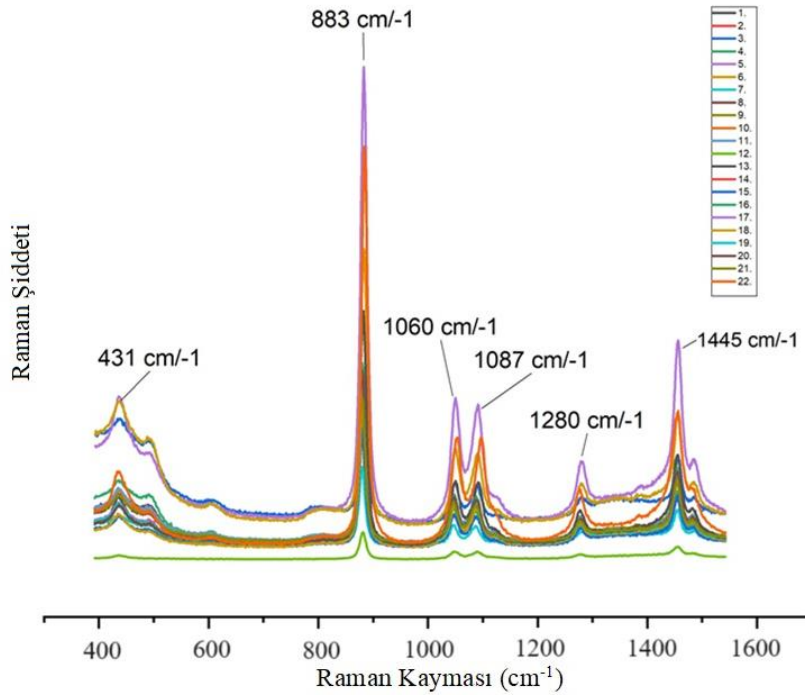
Saf etanolün ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) Raman spektrumu incelendiğinde sırasıyla 431 1/cm, 883 1/cm, 1060 1/cm, 1087 1/cm, 1280 1/cm ve 1455 1/cm'de belirgin Raman bantlarının olduğu gözlemlendi. Bu bantlar arasında en yoğun Raman bandının 883 1/cm'de olduğu ve bu bandın C–C–O simetrik esneme titreşimine ait olduğu belirlendi. Ayrıca, 883 1/cm'deki bant etanole ait en belirgin bant olarak kabul edildi (Şekil 1) ve literatürde yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu saptandı. Etanole ait en belirgin bandı, Emin ve ark. (2020) 888.8 1/cm'de, Šrámek ve ark. (2019) 880 1/cm'de, Magdas ve ark. (2019) 883 1/cm'de olduğunu yaptıkları çalışmalarda belirttiler.

Boğma Rakı numunelerinden elde edilen Raman spektrumlarında da sırasıyla 431 1/cm, 883 1/cm, 1060 1/cm, 1087 1/cm, 1280 1/cm ve 1455 1/cm'de belirgin Raman bantlarının olduğu gözlemlendi (Şekil 2). Raman spektrumlarından elde edilen belirgin bantlar, incelenen numunelerde bulunan

bileşenlerin kimyasal yapısı hakkında bilgi sağlamaktadır. Yapılan çalışmada, 431 $1/cm$ 'deki bandın C–C–O ve C–C'nin deformasyon titreşimlerine, 1060 $1/cm$ ve 1087 $1/cm$ 'deki bantların sırasıyla C–O gerilme ve CH_3 salınımına, 1280 $1/cm$ 'deki bandın $-CH_2-$ gruplarının bükülme titreşimine ve 1455 $1/cm$ 'deki bandın ise $-CH_3$ 'ün asimetrik deformasyonuna ait olduğu belirlendi (Socrates, 2001; Nordon ve ark., 2005; Menevseoglu ve ark., 2021; Papaspyridakou ve ark., 2023).



Şekil 1. Etanole Ait Elde Edilen Raman Spektrumu



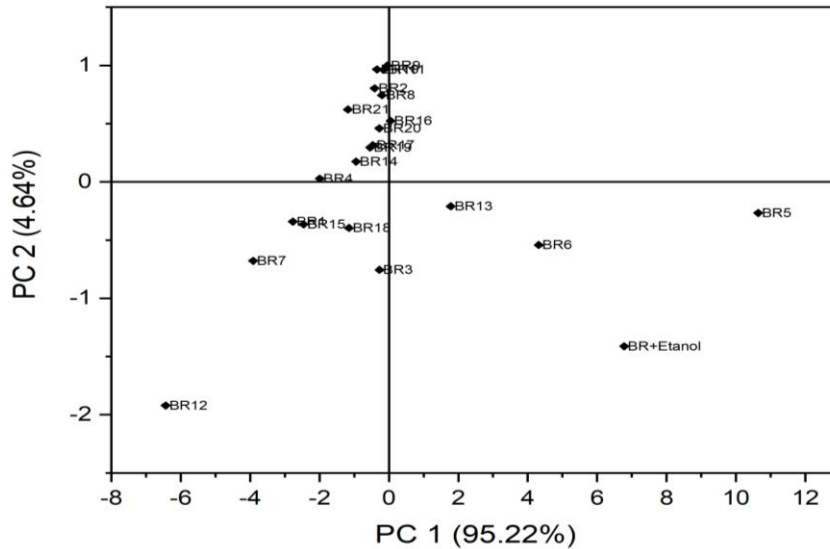
Şekil 2. Farklı Boğma Rakı Numunelerine Ait Raman Spektrumları

Raman spektroskopisinden elde edilen verilere kemometrik metotların uygulanması, alkollü içeceklerde bulunan etanolün hem kalitatif hem de kantitatif olarak belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Kantitatif incelemelerde regresyon modeli kullanılırken, kalitatif incelemelerde sınıflandırma modeli kullanılmaktadır. Raman spektroskopisi ile elde edilen spektral verilerin yüksek

boyutluluğu nedeniyle kemometrik metotların kullanılması, birbiri ile ilişkili çok sayıda değişken içeren veri setinin boyutlarını daha az boyuta indirgeyen bir analiz sağlamaktadır. PCA, veri kümelerini en büyük varyans kaynaklarını temsil eden yön boyunca yansıtır ve bir veri kümesinin temsili özelliklerini yakalar. Denetimsiz bir yöntem olduğundan dolayı ortaya çıkan bileşenlerin doğrudan sınıflandırmayla ilgili modelleri ortaya çıkarması gerekmez. İlk temel bileşenler, veri kümesindeki en büyük varyansları temsil eder ve bunlar büyük olasılıkla grup içi varyasyonlar olabilir. PCA kısaca, özellik çıkarma ve veri temsil etme tekniğidir (Guo ve ark., 2020).

Yapılan çalışmada, Raman spektroskopisi ile incelenen Boğma Rakı numunelerine ait spektrumlar ve bu spektrumlardan elde edilen çok fazla veri olduğundan dolayı PCA metodu kullanıldı. Elde edilen spektrumlardaki verilere dayalı etanol içeriklerinin farklı olup olmadığının da tespiti ve karşılaştırılması PCA metodu ile sağlandı. Karşılaştırma yapmak amacıyla hazırlanan ve etanol içeriği bilinen standart BR+etanol numunesiyle diğer numunelerin karşılaştırılması yapıldı. Boğma Rakı numunelerinde farklı oranlarda etanolün bulunduğu ve farklı üretim metotlarıyla üretildiklerinden dolayı birbirleriyle uyumlu olmadığı sonucuna varıldı.

Numunelerin Raman spektroskopisi ile incelenmesi sonucu elde edilen veriler, OriginPro 2022 programına aktarılarak PCA analizi yapıldı ve PC1 ve PC2 bileşenleri elde edildi. İki tane PC's'nin elde edilmiş olması etanol varlığını açıklamada yeterli oldu. Çünkü ilgili tanımlayıcıların belirli bir kombinasyonunun etkisini benzersiz bir şekilde yakaladığı için az sayıda PC kullanmak yeterli olmaktadır (Açıkgöz ve Çolak, 2023). Çalışmada numunelerin sınıflandırılması için toplam PC1 değeri %95.22 ve toplam PC2 değeri ise %4.64 olarak elde edildi. Toplam PC1 ve PC2 değerleri veri setinin toplam varyansının %99.86'sını oluşturduğu görüldü. Elde edilen PC1 ve PC2 değerlerinin numunelerin etanol içeriğiyle ilgili olduğu saptandı. Çizelge 1 incelendiğinde en yüksek ilk üç PC1 değerine sahip numunelerin sırasıyla BR5, BR+Etanol ve BR6 olduğu görüldü. Ayrıca, PC2'nin PC1'e karşılık elde edilen görselinde de sınıflandırmanın yapılabilirliği gözlemlendi (Şekil 3).



Şekil 3. Boğma Rakı Numunelerinin Raman Spektrumlarından Elde Edilen Verilere Dayalı Olarak Elde Edilen PCA Skorları (PC2'ye karşı PC1)

Literatürde alkollü içeceklerin içeriğindeki etanolün belirlenmesinde Raman Spektroskopisi ve PCA metodunun birlikte kullanıldığı çalışmalar ile yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar uyumluluk göstermektedir. Frausto-Reyes ve ark. (2005) tekila numunelerindeki etanol içeriğini niteliksel olarak incelemek için Raman spektroskopisi ve PCA metodunu kullandılar. Raman spektroskopisi ve PCA

metodunun kullanımının alkollü içeceklerdeki etanol içeriğini niteliksel olarak belirlemek için mükemmel bir yöntem olabileceği sonucuna vardılar.

Çizelge 1. PCA Metodu ile Elde Edilen Boğma Rakı Numunelerine Ait PC1 ve PC2 Skorları

| Numuneler <i>Skor etiketleri</i> | PC 1 (%95.22) <i>Skorlar</i> | PC 2 (%4.64) <i>Skorlar</i> |
|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| BR1 | -2.76816 | -0.34108 |
| BR2 | -0.41382 | 0.80282 |
| BR3 | -0.27326 | -0.75566 |
| BR4 | -1.99232 | 0.02794 |
| BR5 | 10.63929 | -0.26759 |
| BR6 | 4.31695 | -0.54225 |
| BR7 | -3.91461 | -0.67829 |
| BR8 | -0.1984 | 0.74468 |
| BR9 | -0.05066 | 0.99721 |
| BR10 | -0.34362 | 0.96542 |
| BR11 | -0.15335 | 0.9629 |
| BR12 | -6.43125 | -1.92007 |
| BR13 | 1.78211 | -0.21079 |
| BR14 | -0.94324 | 0.17439 |
| BR15 | -2.46029 | -0.36484 |
| BR16 | 0.04332 | 0.52392 |
| BR17 | -0.46226 | 0.31469 |
| BR18 | -1.15278 | -0.39597 |
| BR19 | -0.54274 | 0.29464 |
| BR20 | -0.27944 | 0.45949 |
| BR21 | -1.17901 | 0.62074 |
| BR+Etanol | 6.77756 | -1.4123 |

^aBR+Etanol: Ev yapımı BR numunesi ve etanol eklenmiş numune

Kiefer ve Cromwell (2017) Raman Spektroskopisi ve PCA metodu kullanarak viski şişesinin kapağını açmadan incelediler. Yaptıkları çalışmada, Raman Spektroskopisi ve PCA metodunun kombinasyonunun viskinin içeriğinin tespitinde ideal bir metot olduğu tespit ettiler. Yapılan çalışmada da Boğma Rakı numunelerinde etanolün kalitatif olarak tespitinde, Raman spektroskopisi ve PCA metodu kombinasyonunun birlikte kullanılabilmesi kanıtlandı.

SONUÇ

Çalışmada, Boğma Rakı numunelerinde etanolün kalitatif olarak belirlenebilmesi amacıyla Raman spektroskopisi ve PCA metodu kullanıldı ve numunelerin başarılı bir şekilde karakterizasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar, PCA metodu ile kombinasyon halinde Raman Spektroskopisinin kaçak veya yasal olmayan yollarla üretilen alkollü içeceklerdeki bileşenlerin kontrolü için tarama yöntemi olarak faydalı olabileceğini gösterdi. Ayrıca, kolay uygulanabilirliği, invaziv bir yöntem olmaması ve elde edilen Raman bantları ile incelenen numunenin içeriği hakkında da bilgi sağlaması bakımından Raman spektroskopisinin kullanımının farklı çalışmalarda da avantaj sağlayacağı ispatlandı.

TEŞEKKÜR

Çalışmada, Boğma Rakı numunelerinin toplanmasında emeği geçen merhum meslektaşımız Dr. Öğr. Üyesi Berna HAMAMCI'ya (06.02.2023) teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması

Yazar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, G., Çolak, A. (2023). Illicit drug analysis in blood samples with multivariate analysis using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Spectroscopy*. 38 (S6), 20–27.
- Arslan, M., Tahir, H.E., Zareef, M., Shi, J., Rakha, A., Bilal, M., Xiaowei, H., Zhihua, L., Xiaobo, Z. (2021). Recent trends in quality control, discrimination and authentication of alcoholic beverages using nondestructive instrumental techniques. *Trends in Food Science & Technology*. 107, 80-113.
- Cevik, C., Ozler, G., Arli, C., et al. (2015). Electron microscopic examination of effects of Boğma raki and walnut on cochlea: An experimental study. *Human & Experimental Toxicology*. 34(3), 266-271.
- Emin, A., Hushur, A., Mamtimin, T. (2020). Raman study of mixed solutions of methanol and ethanol. *AIP Advances*. 10, 065330.
- Frausto-Reyes, C., Medina-Gutiérrez, C., Sato-Berrú, R., Sahagún, L.R. (2005). Qualitative study of ethanol content in tequilas by Raman spectroscopy and principal component analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 61(11–12), 2657-2662.
- Guo, S., Rösch, P., Popp, J., Bocklitz, T. (2020). Modified PCA and PLS: Towards a better classification in Raman spectroscopy-based biological applications. *Journal of Chemometrics*. 34, e3202.
- Kiefer, J., & Cromwell, A. L. (2017). Analysis of single malt Scotch whisky using Raman spectroscopy. *Analytical Methods*. 9(3), 511–518.
- Lachenmeier, D.W., Rehm, J. (2009). Unrecorded alcohol: a threat to public health? *Addiction*. 104, 875–877.
- Li, L., Cao, X., Zhang, T., Wu, Q., Xiang, P., Shen, C., Zou, L., Li, Q. (2022). Recent Developments in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Its Application in Food Analysis: Alcoholic Beverages as an Example. *Foods*. 11(14), 2165.
- Magdas, D.A.I., Cozar, B.I., Feher, I., Guyon, F., Dehelean, A., Pinzaru, S.C. (2019). Testing the limits of FT-Raman spectroscopy for wine authentication: Cultivar, geographical origin, vintage and terroir effect influence. *Scientific Reports*. 9, 19954.
- Menevseoglu, A., Aykas, D.P., Hatta-Sakoda, B., Toledo-Herrera, V.H., Rodriguez-Saona, L.E. (2021). Non-Invasive Monitoring of Ethanol and Methanol Levels in Grape-Derived Pisco Distillate by Vibrational Spectroscopy. *Sensors*. 21(18), 6278.
- Nordon, A., Mills, A., Burn, R.T, Cusick, F.M, Littlejohn, D. (2005). Comparison of non-invasive NIR and Raman spectrometries for determination of alcohol content of spirits. *Analytica Chimica Acta*. 548, 148-158.
- Okolo, C.A., Kilcawley, K.N., O'Connor, C. (2023). Recent advances in whiskey analysis for authentication, discrimination, and quality control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 22, 4957–4992.
- Papaspyridakou, P., Giannoutsou, P., Orkoulas, M.G. (2023) Non-Destructive and Non-Invasive Measurement of Ethanol and Toxic Alcohol Strengths in Beverages and Spirits Using Portable Raman Spectroscopy. *Biosensors*. 13, 135.
- Sanyacharenkul, S., Discharoen, N., Chanpichai, N., Boondech, A., Promma, T., Sa-ardsin, W. (2023). Quantitative Determination of Ethanol in Local Thai Alcoholic Beverages by Raman Spectroscopy. *International journal of interdisciplinary research and reviews*. 30, 18(3).
- Smith, W.E., Dent, G. (2005). *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*. Chapter 1: Introduction, Basic Theory and Principles. John Wiley & Sons, Ltd ISBNs: 0-471-49668-5 (HB); 0-471-49794-0 (Pb).
- Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts*, 3rd ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester (UK).
- Šrámek, J., Švancara, I., Sys, M. (2019). Determination of ethanol in alcoholic drinks using Raman spectrometry. *Scientific papers of the University of Pardubice*. 25, 5-14.

Atf İçin: Türkan, F. ve Akil, K. (2024). Piperidin Halkası İçeren Bazı Moleküllerin Glutasyon S-Transferaz ve Kolinesteraz Enzimleri Üzerine Etkilerinin Teorik ve Deneysel Olarak İncelenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 812-821.

To Cite: Türkan, F. & Akil, K. (2024). Theoretical and Experimental Investigation of the Effects of Some Molecules Containing Piperidine Ring on Glutathione S-Transferase and Cholinesterase Enzymes. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 812-821.

Piperidin Halkası İçeren Bazı Moleküllerin Glutasyon S-Transferaz ve Kolinesteraz Enzimleri Üzerine Etkilerinin Teorik ve Deneysel Olarak İncelenmesi

Fikret TÜRKAN^{1*}, Kübra AKİL²

Öne Çıkanlar:

- 1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride molekülünün BChE, AChE ve GST enzimi için etkin bir inhibitör olduğu ortaya çıkmıştır.
- 3-Chloro-4-(3,5-dimethyl-1-piperidinyl) aniline molekülünün BChE, AChE ve GST enzimleri için önemli bir inhibitör olduğu görülmüştür.
- 1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride GST enzimi için diğer molekül ve bilinen çoğu molekülden daha iyi bir inhibitör olarak gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler:

- İnhibisyon
- Moleküler doking
- Piperidin
- Kolinesteraz
- Glutasyon S-Transferaz

ÖZET:

Bu çalışmadaş bünyesinde piperidin halkası bulunduran 1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride (molekül 1), ve 3-Chloro-4-(3,5-dimethyl-1-piperidinyl) aniline (molekül 2) moleküllerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) ve glutasyon s-transferaz (GST) enzimleri için inhibisyon etkileri incelendi. İnhibitörler için hem IC₅₀ hem de Ki çalışmaları yapıldı. Tüm moleküllerin her üç enzim için de iyi birer inhibitör olduğu bulundu. 2.9987±0.2555 Ki değeriyle AChE enzimi için, 1.9301±0.2563 Ki değeriyle de BChE enzimleri için molekül 2' nin etkin inhibitör olduğu bulundu. GST enzimi için ise en etkili inhibitör 4.217±0.3759 değeriyle molekül 1 tespit edilmiştir. Çalışmada etakrinik asit (EA) GST enziminin, takrin (TAC) ise kolinesteraz enzimlerinin pozitif inhibitörü olarak kullanıldı. Moleküllerin standartlardan daha etkin oldukları ve sonucuna ulaşıldı. Ayrıca moleküler doking yapılarak enzim inhibitör etkileşimi teorik olarak incelendi.

Theoretical and Experimental Investigation of the Effects of Some Molecules Containing Piperidine Ring on Glutathione S-Transferase and Cholinesterase Enzymes

Highlights:

- It turns out that molecule 1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride is an effective inhibitor of BChE;AChE and GST enzyme.
- Molecule 3-Chloro-4-(3,5-dimethyl-1-piperidinyl) aniline has been shown to be a significant inhibitor of BChE, AChE and GST enzymes.
- 1-(2-Furylmethyl)piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride has been observed to be a better inhibitor of the GST enzyme than other molecules and most known molecules.

Keywords:

- Inhibition
- Molecular docking
- Piperidine
- Cholinesterase
- Glutathione S-transferase

ABSTRACT:

In this study, the inhibition effects of aniline molecules of 1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acid hydrochloride (molecule 1), and 3-Chloro-4-(3,5-dimethyl-1-piperidinyl) aniline (molecule 2), which contain piperidine ring, on the enzymes of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) and glutathione s-transferase (GST) were investigated. The studies of IC₅₀ and Ki were performed for the inhibitors. All the molecules were found to be good inhibitors for the three enzymes. Molecule 2 was detected to be an effective inhibitory with Ki values of 2.9987±0.2555 for the AChE enzyme and 1.9301±0.2563 for the BChE enzyme. Molecule 1 was found to be another effective molecule with a Ki value of 4.217±0.3759 for the GST enzyme. Ethacrynic acid (EA) and tacrine (TAC) were used as positive inhibitions for enzymes of GST and cholinesterases, respectively. The studied molecules were detected to be more effective compared to the standard compounds. Additionally, enzyme inhibitor interaction was examined theoretically by molecular docking.

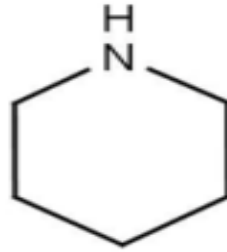
^{1*}Fikret TÜRKAN ([Orcid ID: 0000-0002-0538-3157](https://orcid.org/0000-0002-0538-3157)), İğdır Üniversitesi, Dış Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, İğdır, Türkiye.

²Kübra AKİL ([Orcid ID:0009-0001-8144-3975](https://orcid.org/0009-0001-8144-3975)), Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, İğdır Üniversitesi, İğdır, Türkiye.

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Fikret TÜRKAN, e-mail: fikret.turkan@gmail.com

GİRİŞ

Piperidin halkası içeren moleküllerin toksik etkilerinin daha düşük olması ve bu moleküller biyolojik aktiviteyi artırmalarından dolayı ilaç endüstrisinde sıkça kullanılmaktadırlar(Łazewska ve ark., 2006; Łazewska ve ark., 2008). Açık hali $C_5H_{11}N$ olan yapıda karakteristik kokuya sahip bir sıvıdır. İşlevselleştirilen piperidinler, doğal ürünlerde ayrıca anopterin, pergolin, skopolamin ve morfin gibi birçok aktif bileşikte en yaygın yapı taşlarından biridir (Buffat, 2004). Piperidin, periferik sinir sistemi üzerinde güçlü nikotin etkisi gibi etkiler gösterir ve ayrıca merkezi sinir sistemi eylemlerine sahip olduğu bilinir. Piperidinlerin davranış düzenlenmesi ve bazı sinirsel işlevlere hizmet etmesi gibi etkileri olan bir madde olduğu düşünülmektedir (Kasé, Kataoka, ve Miyata, 1967). Piperidin molekülleri yapısında azot bulunduran diğer heterosiklik moleküllerden farklı bir öneme sahiptirler. Gıda katkı maddesi olarak kullanılmalarının yanında bazı farmasötiklerin üretiminde de kullanılmaktadırlar. Ayrıca gıda hammaddelerin yapısında ve sebzelerde doğal olarak bulunabilen bir organik moleküldür (Neurath ve ark., 1977).



Şekil 1. Piperidin

Piperidin halkasını barındıran bileşiklerin antihiv, antikanser, antifungal, antibakteriyel gibi farmakolojik aktivitelerinin dışında klinikte kullanılan pek çok ilaç etken maddesinin ana iskeletini oluşturmaktadır. Bunun dışında bu halkayı barındıran paroksetin gibi antidepresan ilacın etken maddesinin ana iskeletini oluşturmaktadır. Endüstride ise katalizör, ara madde, sertleştirici, kompleks yapıcı ajan ve çözücü olarak da kullanılmaktadırlar (Abrunhosa-Thomas ve ark., 2013; Kaya, 2018).

Kolinesteraz enzimlerinin insan vücudunda iki çeşidi bulunmaktadır. Bunlar asetilkolinesteraz (AChE; EC 3.1.1.7) ve bütirikolinesteraz (BChE; EC 3.1.1.8) enzimleridir (Shidore ve ark., 2016). Farklı kromozomlar tarafından kodlanan bu enzimler yaklaşık %65 civarında benzerlik gösterse de yetişkin bir bireyde AChE enzimi BChE enziminden daha fazla oranda bulunmaktadır. Beyindeki kolinesteraz aktivitesinin %80'inden AChE enzimi sorumludur (Greig, 2001).

Asetilkolinesteraz enziminin vücuttaki görevleri, sinaps ve miyonöral kavşakta asetilkolinin çok hızlı hidrolizini gerçekleştirmektir; bu da sinir impulsunu sonlandırılarak gereksiz uyarılmaların önüne geçilmesini sağlar. 537 amino asit içeren bir polipeptitmonomer olan asetilkolinesteraz enzimi (AChE), bir saniye içinde 250000 asetilkolin molekülünü parçalayabilmektedir (Demir ve Türkan, 2022). Asetilkolinesteraz (AChE), sinir sisteminin en etkili enzimlerinden biridir ve kolinerjik nörotransmisyonunda önemli bir rolü vardır (Umar ve Aisami, 2020).

Glutasyon S-transferazlar (GSTs) önemli antioksidan enzim grubundadır. Glutasyon S-transferazlar (GST'ler), faz II metabolizmasında yer alan mitokondriyal, sitozolik ve mikrozomal enzimlerdendir (Türkan ve Huyut, 2018). Bu enzimler hücreye toksik şekilde etki ederek hücreyi öldüren ya da fonksiyonunu durduran sitotoksik ajanları canlı organizmadan fizyolojik ve tıbbi olarak uzaklaştırması ve hücre için makromoleküllerin zarar görmemesi gibi büyük önemde rol oynarlar. GST genleri polimorfik özelliğe sahiptirler. Bu da enzimin aktivitesi ve miktarında değişiklikler göstermesine neden olur. Oksidatif stres; kanser, ateroskleroz, diyabet ve benzeri çeşitli hastalıkların

türemesine dolaylı olarak destek olabilmektedir. GST, oksidatif stresin oluşturduğu harabiyete karşı oluşmuş olan defans mekanizmalarındandır (Orhan, 2011).

Bütirilkolinesteraz (BChE) ve Asetilkolinesteraz (AChE) benzer bir yapıya sahiptirler fakat substrat özgülleri ve ACh'yi hidrolize edebilme kabiliyetleri noktasında farklıdırlar. BChE'nin asetilkolin hidroliz etme hızı, AChE'ninkinden daha yavaştır ve ACh'nin bozulmasına katkısı, AChE yokluğunda ikame olarak kullanılmasına neden olur. BChE karaciğerde üretilir. Süksinilkolin, aspirin, ksenobiyotikler, asetanilid ve açlık hormonu ghrelin dahil olmak üzere çeşitli maddelerin hidrolizinde bulunur (Gok, Cicek, Sari, ve Bodur, 2023). Bütirilkolinesterazın fizyolojik işlevi henüz tam öğrenilmemiştir. Butirilkolinesterazın atipik bir formu ya da aktivitesinin yokluğu, kas gevşetici suksametonyumun uygulanmasını takiben uzun süreli apneyeden olur (Allderdice ve ark., 1991). Butirilkolinesteraz gıda ve ilaçlardaki biyoaktif esterlerin metabolize edilmesine yardımcı olur (Brimijoin ve ark., 2016). BChE, düşük dozda organofosfor ve karbamatlı pestisitleri temizler ve böylece insanlara bu zehirlerin toksiklerden koruma sağlar. BChE'nin bu koruyucu görevi, pestisit uygulayıcılarının herhangi bir klinik zehirlenme belirtisi görülmeden BChE aktivitesini azaltabildiğinin bulunmasıyla açıklanmıştır (Lockridge ve Masson, 2000).

Literatürde bu enzimlerin inhibisyonu için ideal özelliklere sahip inhibitörlerin bulunmasına yönelik çalışmalarda farklı bileşik sınıflarından moleküller veya yeni hibrit moleküller kullanıldığı görülmektedir (Esmer, 2022). Bu moleküllerin AChE, BChE ve GST enzimleri üzerine inhibisyon etkileri hem teorik olarak hem de deneysel olarak ilk defa çalışılacaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmalar için gerekli olan bütün malzemeler SigmaAldrichCompony'den temin edilmiştir. Çalışma boyunca laboratuvarında kullanılan kimyasallar, 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit (DTNB), asetilkolinilyodat (AChI), trihidroksimetilaminometan (Tris), hidroklorik asit (HCl), Takrin, sodyum fosfat, EDTA, sodyum sitrat; 1-kloro-2,4- dinitrobenzen (CDNB), etakrinik asit, potasyum fosfat dibazik (KH₂PO₄), Etilendiamintetra asetik asit (EDTA), Glutasyon (GSH), sodyum hidroksit (NaOH), etanol (C₂H₅OH), bütirilkolinilyodat (BChI). İnhibisyon çalışmasında kullanılan enzimler Asetilkolinesteraz enzimi (AChE), Glutasyon S-transferaz Enzimi (GST), bütirilkolinesteraz (BChE) SigmaAldrichCompony'den temin edilmiştir.

İnhibitör çözeltilerin hazırlanması

Çalışmada kullanılan inhibitörlerin hepsi (molekül 1, molekül 2) için 1mg tartıldı ve 1 ml etanolde çözüldü ve stok çözeltiler hazırlandı. Daha sonra her bir inhibitör için 100 µL alındı ve distile su ile 1000 µL'ye tamamlandı.

Metot

AChE/BChE enziminin aktivite ölçümü

Kolinesteraz enzimlerinin aktivite ölçüm yöntemleri Ellman yöntemi ile sağlandı (Ellman ve ark., 1961). Bu enzimler asetilkolinin (ACh) tiyokoline hidrolizini katalize ederler. Tiyokolinin var olma formülü 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin ortaya çıkışının sebep olduğu sarı bir rengi türeten 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ve tiyokolinin tepkimesinin takibi ile sarı renge sahip olan anyonun oluşum oranı (renk şiddeti) 412 nm'de ölçülerek belirlenmektedir.

GST enziminin aktivitesi ölçümü

Glutasyon S-transferaz (GST) enzimi, glutasyon molekülü ile aromatik bir elektrofilin birleşmesini katalize eder. CDNB (1-kloro-2,4-dinitrobenzen) en sık kullanılan aromatik elektrofildir. Bu substratın harcanmasıyla ortaya çıkan dinitrobenzen S-glutasyon (DNB-SG) son ürünü en yoğun 340 nm'de absorbanans göstermektedir. Bu sayede bahsettiğimiz dalga 26 boyundaki absorbanans artışını da kullanarak aktivite hesaplaması sağlanabilir. Belirtilen metot baz alınarak aktivite ölçümlerimizi yapabildik. Tüm toplam hacmin 1mL'i geçmeyeceği şekilde bir karışım aktivite ölçümü yapabilmek amacıyla hazırlandı. Bunun için kör olarak hazırlanan küvete 0.1 M 200 µl fosfat tamponu (K_2HPO_4/KH_2PO_4 pH:7.0) 25 mM 20 µl %95'lik CDNB (etanol içinde), 20 mM 50 µl GSH ve 730 µl saf su ilavesi gerçekleştirdik. Aktivite ölçümü yapılacak küvetlere ise 0.1 M 200 µl (K_2HPO_4/KH_2PO_4 pH:7.0) 25 mM 20 µl %95'lik CDNB (etanol içerisinde) ve 20 mM 50 µl GSH katıldı ve çalkalandı. Ardından enzim örneği 20 µl'lik olacak şekilde vakit kaybedilmeden dahil edildi. Sonrasında küvet spektrofotometreye konuldu ve okumaya geçildi. Tüm okumalar 3 dakika içerisinde 60 saniyede bir yapıldı. Elde edilen absorbanans değerleri hesaplandı ve not alındı (Habig ve ark., 1974).

Moleküler kenetleme yöntemi

Bu moleküllerin moleküler yerleştirme skorlarını hesaplamak için Molecular Graphics Laboratory yazılım paketinin bir parçası olan AutoDock aracı kullanılmıştır. Izgara kutuları asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) ve glutasyon S-transferaz (GST) enzimlerinin tüm yüzeyini kapsayacak şekilde tanımlanmıştır. AChE (pdb kodu: 7XN1, 2.85 Å) ve GST (pdb kodu: 3DK9, 0.95 Å) ve BChE (pdb kodu: 4BDS, 2.10 Å) enzimlerinin 3 boyutlu x-ışını kristal yapısı, Protein Data Bank'dan pdb formatında elde edildi (Cetin ve ark., 2021). Proteinlerden su molekülleri uzaklaştırıldı, ardından polar hidrojen bağları eklenerek ve Kollman yükleri atanarak proteinler moleküler kenetleme işlemine hazır hale getirildi. Seçilen enzimlerin inhibitör ile kompleks halindeki yapıları Autodock Vina yazılımı kullanılarak hazırlandı (Huey ve ark., 2012). Seçilen moleküllerin 3 boyutlu yapıları Chemdraw Ultra 8.0 yazılımı ile çizildi. Bu moleküllerin 3 boyutlu yapıları sdf formatında kaydedildi. Çıktı dosyaları Babel-2.4.0 yazılımı kullanılarak pdb formatına dönüştürüldü ve pirazol moleküllerinin enerji minimizasyonu Avogadro yazılımı tarafından gerçekleştirildi ve pirazol moleküllerine hidrojen bağları eklendi ve Autodock 1.5.6 kullanılarak dönebilen bağlar ve Gasteiger yükleri atandı. Yazılım ve daha sonra pirazol molekülleri daha sonraki yerleştirme işlemleri için pdbqt'ye kaydedildi. Bağlanma ceplerinin koordinatları, seçilen her bir enzime özgü boyutlarla ayarlanmıştır. Docking simülasyonları için kullanılan parametreler 50 çalıştırma ve 300 popülasyon boyutunu içeriyordu. Kullanılan moleküler kenetleme için doğruluğunu ve güvenilirliğini doğrulamak için standart bir validasyon süreci uygulandı. Bu geçerlilik süreci, tanımlı bir protein-ligand kompleksi seti üzerinde yapılan kenetleme işlemlerinin sonuçlarını dikkatlice karşılaştırarak gerçekleştirildi. Enzim-pirazol molekülü komplekslerinin 2D ve 3D pozları BIOVIA Discovery Studio yazılımı kullanılarak görselleştirildi. Daha sonra, enzim-pirazol molekül komplekslerinin ligand verimlilikleri, bağlanma enerjileri, inhibisyon aktiviteleri, hidrojen bağları ve bağ uzunlukları AutoDock Tools yazılımı (sürüm 1.5.6) kullanılarak analiz edilmiştir (Trott ve Olson, 2010).

BULGULAR VE TARTIŞMA

1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride (**molekül 1**), ve 3-Chloro-4-(3,5-dimethyl-1-piperidinyl) aniline (**molekül 2**) molekülleri inhibitör olarak kullanıldı. İnhibisyon çalışmaları tüm enzimler için IC_{50} ve K_i olmak üzere iki basamakta gerçekleştirildi.

Molekül 1'in IC₅₀ değerleri AChE enzimi için 5.25 µM ve R² değeri 0.9438; BChE enzimi için 3.98 µM ve R² değeri 0.9928; GST enzimi için 4.78 µM ve R² değeri 0.9923 olarak bulundu. **Molekül 2'in** IC₅₀ değerleri AChE enzimi için 4.97 µM ve R² değeri 0.9917; BChE enzimi için 4.75 µM ve R² değeri 0.9728; GST enzimi için 4.39 µM ve R² değeri 0.9984 olarak bulundu. Kolinesteraz enzimleri için standart olarak Takrin (TAC) molekülü çalışıldı (Boy ve ark., 2021; Turan ve ark., 2021). IC₅₀ değerleri AChE için 5.87 µM ve R² değeri 0.9962; BChE enzimi için 6.02 µM ve R² değeri 0.974 olarak bulundu. GST enziminin standart inhibitörü olan Etakrinik Asit (EA) çalışıldı (Aydın, Yurtvermez, Şentürk, Kazaz, ve Çakır, 2019; Adnan Cetin ve ark., 2021) ve IC₅₀ değeri 4,05 µM ve R² değeri 0.9955 olarak bulundu (**Tablo 1**).

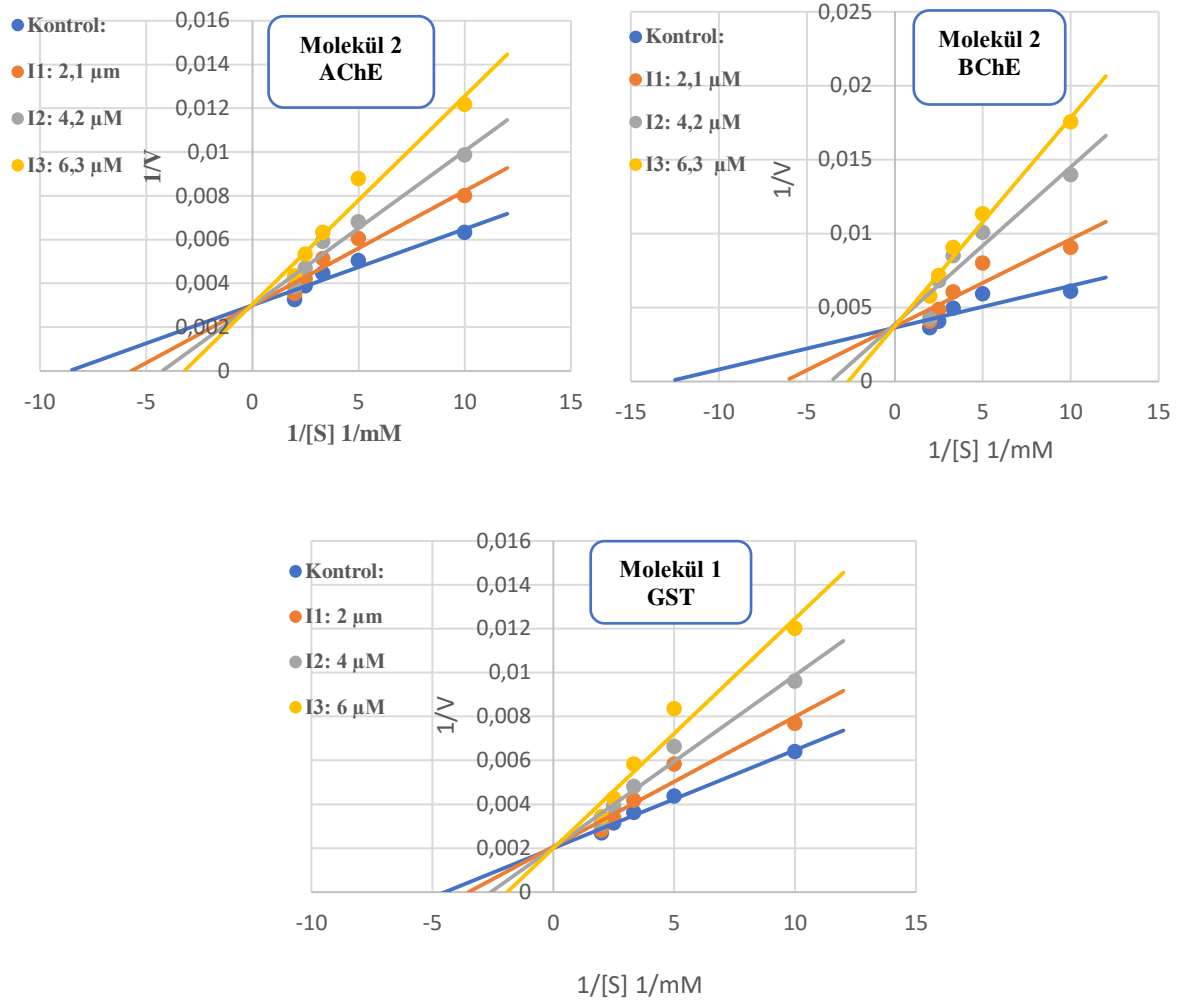
İnhibisyon çalışmasının ikinci basamağında AChE enzimi üzerine molekül 1 ve molekül 2'nin Ki değerleri 5.8517±1.2057 ve 2.9987±0.2555; BChE enzimi sonuçları 2.3637±0.7802 ve 1.9301±0.2563 olarak bulundu. Pozitif kontrol olarak Takrin molekülü çalışıldı ve sonuçlar sırasıyla 6.0973±1.6961 ve 2.564±0.05667 şeklinde belirlendi. Değerler incelendiğinde her iki molekülünde standarttan daha iyi birer inhibitör olduğu görülmektedir. GST enzimi üzerine moleküllerin Ki sonuçları ise sırasıyla 4.217±0.3759 ve 6.5307±0.8824 olarak bulundu. Her üç enzim için en iyi Ki değerini gösteren moleküllerin Lineweaver Burk grafikleri Şekil 2' de gösterilmiştir. Standart inhibitör olarak Etakrinik asit çalışıldı ve Ki değeri 5.9117±0.811 olarak bulundu. Molekül 1'in hem molekül 2' den hem de standart inhibitörden daha etkin olduğu görüldü. Tüm bulgular **tablo 1' de** verildi. Sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında sonuçlarımızla uyumlu mikromolar düzeyde inhibisyon sonuçlarının elde görülmektedir. Ayrıca çalışmalarda kullanılan pozitif kontrollerinde sonuçlarımızı desteklediği görülmektedir (Turkan ve ark., 2019a; Turkan ve ark., 2019b; Türkan ve ark., 2020; Turkan ve ark., 2021, Balcı ve ark., 2023).

Tablo 1. İnhibisyon Çalışma Bulguları

| Moleküller | AChE | | | BChE | | | GST | | |
|-------------------------|-----------------------|----------------|---------------|-----------------------|----------------|---------------|-----------------------|----------------|---------------|
| | IC ₅₀ (µM) | R ² | Ki (µM) | IC ₅₀ (µM) | R ² | Ki (µM) | IC ₅₀ (µM) | R ² | Ki (µM) |
| Molekül 1 | 5.25 | 0.9438 | 5.8517±1.2057 | 3.98 | 0.9928 | 2.3637±0.7802 | 4.78 | 0.9923 | 4.217±0.3759 |
| Molekül 2 | 4.97 | 0.9917 | 2.9987±0.2555 | 4.75 | 0.9728 | 1.9301±0.2563 | 4.39 | 0.9984 | 6.5307±0.8824 |
| Takrin* | 5.87 | 0.9962 | 6.0973±1.6961 | 6.02 | 0.9740 | 2.564±0.05667 | - | - | - |
| Etakrinik asit** | - | - | - | - | - | - | 4.05 | 0.9955 | 5.9117±0.811 |

*AChE ve BChE enzimlerinin standart inhibitör, ** GST enziminin standart inhibitörüdür.

Pirozol moleküllerini içeren ve AChE ile GST enzimleri içeren bir çalışmada yapılan inhibitör değerleri beklenen değerlerden daha standart çıkmıştır. Yapılan çalışma için Cetin ve ark. ikame edilmiş pirozol bileşikler ile enzim inhibitör deneylerinin yeni ilaç araştırmalarında önemli bir araç olduğunu kanıtlamışlardır. İnhibitör maddelerin yeteri kadar bilinmemesi ve çalışmalarla ortaya çıkacak olması çalışmaların artırılmasının getirdiği zorunluluğu göstermektedir (Cetin ve ark., 2022). Glutatyon S-transferaz enzimleri endojen moleküller, kemoterapik ilaçlar, çevresel karsinojenler olmak üzere ksenobiyotiklerin geniş spektrumunu toksinlerinden ayırabilirler. Glutatyon transferazlar, belirli metabolitleri toksiklik miktarı daha minimal olan maddelere dönüşmesini katalize etmektedirler. Çoğunlukla detoksifikasyonla sonuçlanmış olan faz II reaksiyonları içerisinde organizmayı çok yoğun olan reaktif elektrofilik cisimlerin ataklarına karşı koruyan GST enzimleri yardımıyla gerçekleşen glutatyonun konjugasyon reaksiyonlarıdır. Bir çalışmada bazı antibiyotiklerin az miktarda olan dozlarda GST enzimini inhibe edebildiği sonucuna ulaşılmıştır. GST enzimi inhibasyon maddesinin çeşitliliğinin yeteri kadar bilinip bilinmediğini düşündürmektedir (Türkan ve Atalar, 2018).



Şekil 2. AChE, BChE ve GST enzimleri için en iyi inhibitörün Lineweaver Burk grafikleri

Sıçanlar ile ilgili yapılan bir çalışmada ise BChE'nin uzun süreli inhibisyonu ve ACh seviyesinin yükselmesi durumunda uzun vadeli güçlenme görülmüştür. Bu olgular aynı zamanda yaşlı sıçanların bilişsel yeteneklerini (labirente gezinebilme gibi) geliştirmiştir. Bu çalışmaya GST inhibisyon etkileri de eklenirse bu ve benzeri çalışmalar değişebilir (Greig ve ark., 2005). AChE inhibitörlerinin potansiyel bir kaynağı kesinlikle doğadaki bitkilerin bolluğu tarafından karşılanmaktadır ve bir çalışmada farklı bitkiler ele alınarak bilinen inhibitör sayısını artırmak istemiştir. Bu iletişimde çok sayıda bitki bileşeni ve AChE inhibitörleri olarak gelecek vaat eden bitki türleri rapor edilmiştir. Daha geniş araştırmalarla araştırılmayan bitkilerden de çok sayıda inhibitör elde edileceği düşüncesi netleşmiş ve daha çok araştırmaya yönelmemiz gerektiği de vurgulanmıştır (Mukherjee ve ark., 2007).

Moleküler kenetleme çalışmaları

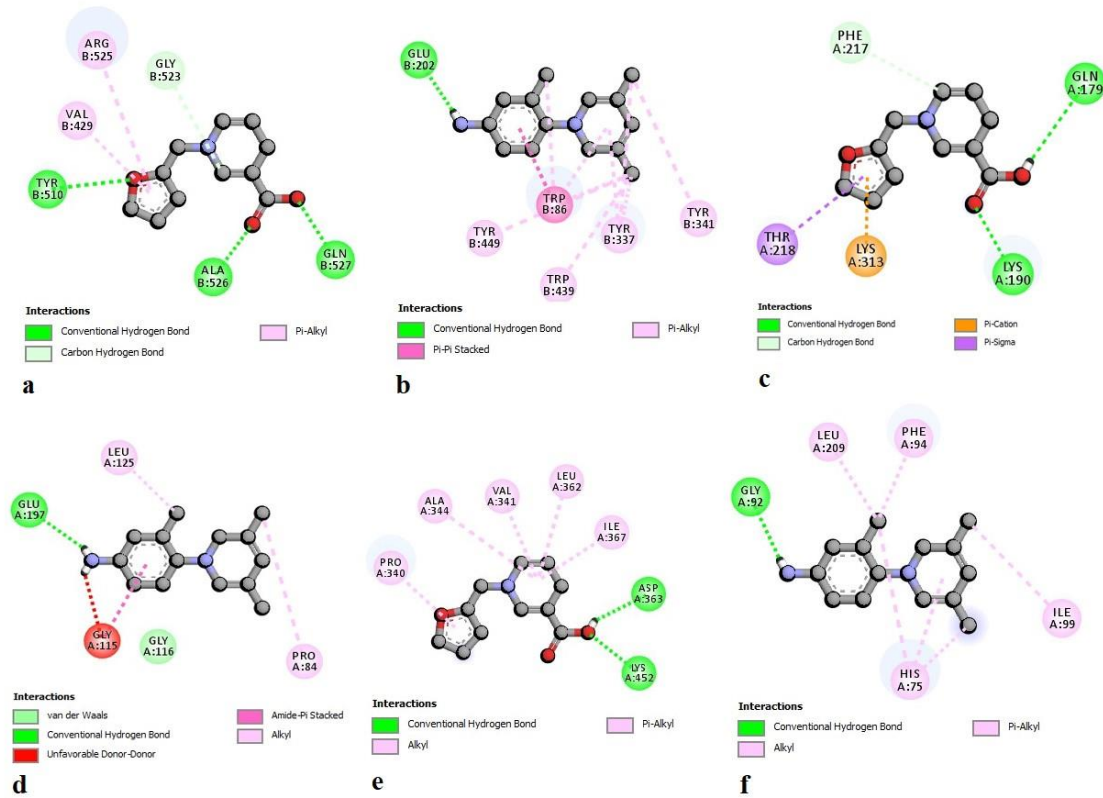
Moleküler kenetleme çalışmaları, ilaç keşfi ve geliştirme süreçlerinde kritik bir rol oynar. Bu yöntem, potansiyel ilaç moleküllerinin biyolojik hedeflerle nasıl etkileşime girebileceğini anlamamıza olanak tanır (Yuriev ve Ramsland, 2013). Ayrıca, biyolojik moleküller arasındaki etkileşimleri ve bağlanma modellerini anlamak için kullanılır. Bu sayede, hastalıkların temelinde yatan biyolojik süreçleri hedefleme ve yeni tedavilerin geliştirilmesi mümkün olur. Aynı zamanda, ilaç tasarımı ve optimizasyonunda da önemli bir araç olan moleküler kenetleme, daha etkin ve seçici ilaçların

geliştirilmesine de olanak sağlar. Bu nedenle, moleküler kenetleme çalışmaları, tıp ve biyoteknoloji alanlarında büyük bir öneme sahiptir. Bu yüzden bu moleküllerin üç farklı enzimle oluşturduğu komplekslerin bağlanma enerjileri ve etkileşimleri detaylı incelenmiştir. Tablo 1 de görüldüğü gibi, AChE ve Molekül 1/Molekül 2 bileşiklerinin oluşturduğu komplekslerin bağlanma enerjileri sırasıyla -5.7 ile -7.1 kcal/mol olarak ölçüldü. Sadece Molekül 2 kompleksi, standart ilaç olan Takrin ile (-6.4 kcal/mol) kıyaslandığında daha yüksek bir bağlanma enerjisine sahip olduğu belirlendi. Molekül 1 ve Molekül 2 bileşikleri, AChE amino asit kalıntıları Tyr510, Ala526 ve Glu202 ile konvansiyonel ve geleneksel hidrojen bağları oluşturdu (Şekil 1). Molekül 2 ve AChE kompleksi arasında oluşan amino asit kalıntısı Trp86 ile pi-pi stacked bağı gözlemlendi. Ayrıca, her iki kompleksin Val 429, Arg525, Gly523, Tyr449, Trp439, Tyr337, Tyr341 amino asit kalıntılarıyla alkil ve pi-alkil bağları yaptıkları belirlendi.

Tablo 2. Enzim ve Moleküllerin Komplekslerinin Bağlanma Enerjileri ve Moleküler Etkileşimleri

| Kompleks | Bağlanma Afinitesi (kcal/mol) | Etkileşim türü | Etkileşen kalıntılar |
|----------|-------------------------------|--|--|
| AChE-1 | -5.7 | Konvansiyonel hidrojen, geleneksel hidrojen ve alkil bağları | Tyr510, Ala526, Gln527, Val 429, Arg525, Gly523 |
| AChE-2 | -7.1 | Geleneksel hidrojen, pi-pi stacked ve pi-alkil bağları | Glu202, Trp86, Tyr449, Trp439, Tyr337, Tyr341 |
| BChE-1 | -5.2 | Konvansiyonel hidrojen, Karbon hidrojen, pi-kasyon ve pi-sigma bağları | Gln179, Phe217, Lys313, Lys190, Thr218 |
| BChE-2 | -6.1 | Van der Waals, Konvansiyonel hidrojen, amide-pi stacked ve alkil bağları | Gly116, Glu197, Gly115, Pro84, Leu125 |
| GST-1 | -6.4 | Konvansiyonel hidrojen, pi-alkil ve alkil bağları | Asp363, Lys452, Ile367, Leu362, Val341, Ala344, Pro340 |
| GST-2 | -6.6 | Konvansiyonel hidrojen, pi-alkil ve alkil bağları | Gly92, Phe94, Leu209, His75, Ile99 |

BChE ve Molekül 1/Molekül 2 bileşiklerinin oluşturduğu komplekslerin bağlanma enerjileri sırasıyla -5.2 ile -6.1 kcal/mol olarak ölçüldü. Her iki bileşiğin enzimle oluşturduğu komplekslerin bağlanma enerjileri Takrin ile (-7.0 kcal/mol) kıyaslandığında daha düşük bir bağlanma enerjisine sahip olduğu tespit edildi. Molekül 1 bileşiği, BChE amino asit kalıntıları Gln179, Phe217, Lys313 ile konvansiyonel ve karbon hidrojen bağları oluşturdu. Lys190 ve Thr218 amino asit kalıntılarının Molekül 1 ile pi-sigma ve pi-kasyon bağları yaptığı belirlendi. Molekül 2 ve BChE kompleksi içinde yer alan amino asit Gly116 ile Van der Waals bağı gözlemlendi. GST ve her iki bileşik komplekslerinin bağlanma enerjileri sırasıyla -6.4 ile -6.6 kcal/mol olarak ölçüldü. Molekül 2-GST enzim kompleksi, Molekül 1-GST enzim kompleksinden daha yüksek bir bağlanma enerjisine sahipti. Ancak, standart ilaç olarak Etakrinik asitin (-7.2 kcal/mol) bağlanma enerjisinden daha düşük olduğu belirlendi. Molekül 1 ve Molekül 2 bileşikleri, GST amino asit kalıntıları Asp363 ve Gly92 ile konvansiyonel hidrojen bağları oluştururken, GST amino asit kalıntıları Lys452, Ile367, Leu362, Val341, Ala344, Pro340 ve Phe94, Leu209, His75, Ile99 ile pi-alkil ve alkil bağları kurdu. Deneysel inhibisyon sonuçları ile moleküler kenetleme sonuçlarını karşılaştırdığımızda, elde ettiğimiz bulguların birbirine çok benzeyen özellikler taşıdığı görülmektedir. Örneğin, moleküllerin IC₅₀ ve Ki değerleri hem birbirine yakın hem de standart bileşiklerden daha düşüktür. Benzer şekilde, moleküler kenetlemede bağlanma enerjileri de bu deneysel sonuçlarla uyumlu olarak gözlenmiştir. Bu sonuçlar hem deneysel verileri doğrulamakta hem de moleküler kenetleme yönteminin güvenilirliğini desteklemektedir.



Şekil 3. Moleküllerin ve Enzimlerin 3D Etkileşim Diyagramı: a) AChE-Molekül 1 b) AChE-Molekül 2 c) BChE-Molekül 1 d) BChE-Molekül 2 e) GST-Molekül 1 f) GST-Molekül 2

SONUÇ

Piperidin halkası içeren 1-(2-Furylmethyl) piperidine-3-carboxylic acidhydrochloride (molekül 1), ve 3-Chloro-4-(3,5-dimethyl-1-piperidinyl) aniline (molekül 2) moleküllerinin hem kolinesteraz enzimleri hem de glutatyon s-transferaz enzimi için iyi birer inhibitör olduğu bulundu. Tüm moleküllerin standart inhibitörlerden daha etkin olduğu görüldü. GST enzimi için molekül 1, kolinesteraz enzimleri için molekül 2'nin daha etkin inhibitör oldukları bulundu. Bu moleküller için in vivo çalışmalar ve gerekli diğer faz çalışmaları yapılarak alternatif ilaç olarak piyasaya sunulmasını önerebiliriz.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın deneysel kısmı Iğdır Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim

Yazar Katkısı

Yazarların makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederim.

KAYNAKLAR

Abrunhosa-Thomas, I., Plas, A., Vogrig, A., Kandepedu, N., Chalard, P., ve Troin, Y. (2013). Access to 2, 6-disubstituted piperidines: control of the diastereoselectivity, scope, and limitations. applications to the stereoselective synthesis of (-)-solenopsine A and alkaloid (+)-241D. *The Journal of Organic Chemistry*, 78(6), 2511-2526.

- Allderdice, P., Gardner, H., Galutira, D., Lockridge, O., Ladu, B. N., ve McAlpine, P. (1991). The cloned butyrylcholinesterase (BCHE) gene maps to a single chromosome site, 3q26. *Genomics*, 11(2), 452-454.
- Aydın, T., Yurtvermez, B., Şentürk, M., Kazaz, C., ve Çakır, A. (2019). Inhibitory effects of metabolites isolated from *Artemisia dracunculus* L. against the human carbonic anhydrase I (hCA I) and II (hCA II). *Records of Natural Products*, 13(3), 225.
- Balcı, N., Çelik, H., Türkan, F., Çelebioğlu, N., Çelik, T., ve Bursal, E. (2023). Schiff Base Synthesis with a New Reliable Method and Investigation of Their Inhibition Effects on Glutathione S-Transferase and Cholinesterase Enzymes. *ChemistrySelect*, 8(18), e202204566.
- Boy, S., Türkan, F., Beytur, M., Aras, A., Akyıldırım, O., Karaman, H. S., ve Yüksek, H. (2021). Synthesis, design, and assessment of novel morpholine-derived Mannich bases as multifunctional agents for the potential enzyme inhibitory properties including docking study. *Bioorganic Chemistry*, 107, 104524.
- Brimijoin, S., Chen, V. P., Pang, Y.-P., Geng, L., ve Gao, Y. (2016). Physiological roles for butyrylcholinesterase: A BChE-ghrelin axis. *Chemico-biological interactions*, 259, 271-275.
- Buffat, M. G. (2004). Synthesis of piperidines. *Tetrahedron*, 60(8), 1701-1729.
- Cetin, A., Bursal, E., ve Türkan, F. (2021). 2-methylindole analogs as cholinesterases and glutathione S-transferase inhibitors: Synthesis, biological evaluation, molecular docking, and pharmacokinetic studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(12), 103449.
- Cetin, A., Oguz, E., ve Türkan, F. (2022). In Silico and In Vitro Analysis of Acetylcholinesterase and Glutathione S-Transferase Enzymes of Substituted Pyrazoles. *Russian Journal of General Chemistry*, 92(11), 2415-2428.
- Demir, Z., ve Türkan, F. (2022). Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz Enzimlerinin Alzheimer Hastalığı ile İlişkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(4), 2386-2395.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., ve Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Esmer, Y. İ. (2022). Bazı yeni hidrazon bileşiklerinin sentezi, karakterizasyonu ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,
- Gok, M., Cicek, C., Sari, S., ve Bodur, E. (2023). Novel activity of human BChE: Lipid hydrolysis. *Biochimie*, 204, 127-135.
- Greig, N. (2001). Utsuki 1T, Yu QS, Zhu XX, Holloway HW, Perry TA, Lee B, Ingram DK, Lahiri DK: A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: Attention to butyrylcholinesterase. *Curr Med Res Opin*, 17, 159-165.
- Greig, N. H., Utsuki, T., Ingram, D. K., Wang, Y., Pepeu, G., Scali, C., . . . Giordano, T. (2005). Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer β -amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(47), 17213-17218.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., ve Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- Huey, R., Morris, G. M., ve Forli, S. (2012). Using AutoDock 4 and AutoDock vina with AutoDockTools: a tutorial. *The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory*, 10550(92037), 1000.
- Kasé, Y., Kataoka, M., ve Miyata, T. (1967). In vitro production of piperidine from pipercolic acid in the presence of brain tissue. *Life Sciences*, 6(22), 2427-2431.
- Kaya, C. (2018). Bazı piperidin türevi bileşiklerin sentezi ve olası antidepresan etkilerinin incelenmesi. Anadolu University (Turkey),
- Łażewska, D., Kuder, K., Ligneau, X., Schwartz, J.-C., Schunack, W., Stark, H., ve Kieć-Kononowicz, K. (2008). Piperidine variations in search for non-imidazole histamine H3 receptor ligands. *Bioorganic ve medicinal chemistry*, 16(18), 8729-8736.
- Łażewska, D., Ligneau, X., Schwartz, J.-C., Schunack, W., Stark, H., ve Kieć-Kononowicz, K. (2006). Ether derivatives of 3-piperidinopropan-1-ol as non-imidazole histamine H3 receptor antagonists. *Bioorganic ve medicinal chemistry*, 14(10), 3522-3529.

- Lockridge, O., ve Masson, P. (2000). Pesticides and susceptible populations: people with butyrylcholinesterase genetic variants may be at risk. *Neurotoxicology*, 21(1-2), 113-126.
- Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., ve Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4), 289-300.
- Neurath, G., Dünger, M., Pein, F., Ambrosius, D., ve Schreiber, O. (1977). Primary and secondary amines in the human environment. *Food and Cosmetics Toxicology*, 15(4), 275-282.
- Orhan, O. (2011). Glutatyon S-transferaz gen polimorfizmi ve gestasyonel diabetes mellitus ile ilişkisi. Bursa Uludag University (Turkey).
- Trott, O., ve Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Turan, N., Buldurun, K., Adiguzel, R., Aras, A., Turkan, F., ve Bursal, E. (2021). Investigation of spectroscopic, thermal, and biological properties of FeII, CoII, ZnII, and RuII complexes derived from azo dye ligand. *Journal of Molecular Structure*, 1244, 130989.
- Turkan, F., Cetin, A., Taslimi, P., Karaman, H. S., ve Gulçin, İ. (2019a). Synthesis, characterization, molecular docking and biological activities of novel pyrazoline derivatives. *Archiv Der Pharmazie*, 352(6), 1800359.
- Turkan, F., Cetin, A., Taslimi, P., Karaman, M., ve Gulçin, İ. (2019b). Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel pyrazole derivatives as potent carbonic anhydrase and acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 86, 420-427.
- Türkan, F., ve Atalar, M. N. (2018). Glutatyon S-Transferaz Enzim Aktivitesi Üzerine Amoksilin ve Vankomisin Hidroklorid Hidratın Etkisi: Bir in vitro çalışma. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 8(2), 141-148.
- Türkan, F., Calimli, M. H., Kanberoğlu, G. S., ve Karaman, M. (2021). Inhibition effects of isoproterenol, chlorpromazine, carbamazepine, tamoxifen drugs on glutathione S-transferase, cholinesterases enzymes and molecular docking studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(9), 3277-3284.
- Türkan, F., ve Huyut, Z. (2018). Inhibition behaviour of some antibiotics on glutathione S-transferase and acetyl cholinesterase activities: in vitro and in vivo. *Journal of Cellular Neuroscience ve Oxidative Stress*, 10(2).
- Türkan, F., Huyut, Z., Taslimi, P., Huyut, M. T., ve Gülçin, İ. (2020). Investigation of the effects of cephalosporin antibiotics on glutathione S-transferase activity in different tissues of rats in vivo conditions in order to drug development research. *Drug and chemical toxicology*, 43(4), 423-428.
- Umar, A. M., ve Aisami, A. (2020). Acetylcholinesterase enzyme (AChE) as a biosensor and biomarker for pesticides: A mini review. *Bulletin of Environmental Science and Sustainable Management (e-ISSN 2716-5353)*, 4(1), 7-12.
- Yuriev, E., ve Ramsland, P. A. (2013). Latest developments in molecular docking: 2010–2011 in review. *Journal of Molecular Recognition*, 26(5), 215-239.

Atf İçin: Gören, K., Bağlan, M., Yıldiko, Ü. ve Tahiroğlu, V. (2024). Anti-Kanser ve Anti-Üreaz Aktivitesi için Tiazolidinon-Bis Schiff Bazının Moleküler Yerleştirme ve DFT Analizi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 822-834.

To Cite: Gören, K., Bağlan, M., Yıldiko, Ü. & Tahiroğlu, V. (2024). Molecular Docking and DFT Analysis of Thiazolidinone-Bis Schiff Base for anti-Cancer and anti-Urease Activity, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 822-834.

Anti-Kanser ve Anti-Üreaz Aktivitesi için Tiazolidinon-Bis Schiff Bazının Moleküler Yerleştirme ve DFT Analizi

Kenan GÖREN¹, Mehmet BAĞLAN¹, Ümit YILDIKO², Veysel TAHİROĞLU^{3*}

Öne Çıkanlar:

- DFT optimizasyonu
- Kanser karşıtı
- Schiff Baz

Anahtar Kelimeler:

- DFT
- NBO
- MEP
- Moleküler Yerleştirme
- Tiazolidinon-Bis Schiff Bazı

ÖZET:

Bu araştırma (2Z,5E)-2-(((E)-benziliden)hidraziniliden)-5-(nitro(fenil)metilen)-3-feniltiazolidin-4-on molekülün (Tiazolidinon-Bis Schiff Bazı) yapısal karakterizasyonuna odaklanmıştır. Molekülün kararlı faz geometrisine dayanarak yapısal karakterizasyon için SDD ve 6-311++G(d,p) temel setleri ile B3PW91 tekniği kullanılarak tüm hesaplamalar yapıldı. Çalışmamızda yörüngeler arası ve yörüngeler arası bağ etkileşimleri, HOMO-LUMO enerji boşlukları ve Tiazolidinon-Bis Schiff Bazı'nın elektrostatik yüzey haritalama işlemleri dahil olmak üzere birçok hesaplama gerçekleştirildi. Daha sonraki bir çalışmada, protein üzerindeki ligandın özel bağlanma bölgesini ve mekanizmasını analiz etmek için moleküler yerleştirmeyi kullandık. Schiff Thiazolidinone Kansere ve üreaz enzimlerine karşı moleküler yerleştirme sonuçları elde edildi.

Molecular Docking and DFT Analysis of Thiazolidinone-Bis Schiff Base for anti-Cancer and anti-Urease Activity

Highlights:

- DFT Optimization
- Anti-Cancer
- Schiff Base

Keywords:

- DFT
- NBO
- MEP
- Molecular Doking
- Thiazolidinone-Bis Schiff Base

ABSTRACT:

This research focused on the structural characterization of (2Z,5E)-2-(((E)-benziliden)hidraziniliden)-5-(nitro(fenil)metilen)-3-feniltiazolidin-4-on molecule (Thiazolidinone-Bis Schiff Base). Depending on the molecule's stability phase geometry, all analyses have been carried out utilizing the B3PW91 technique with 6-311++G(d,p) and SDD basis sets, for structural characterisation. Many computations were performed in our work, including inter-orbital and inter-orbital bond interactions, HOMO-LUMO energy deficiencies, and electrostatic surface mapping processes of the Thiazolidinone-Bis Schiff Base. In a subsequent investigation, we have used molecular docking to analyze the particular binding place and method of the ligand onto the protein. Schiff Thiazolidinone Molecular docking results against cancer and urease enzymes were obtained.

¹Kenan GÖREN ([Orcid ID: 0000-0001-5068-1762](https://orcid.org/0000-0001-5068-1762)), Mehmet BAĞLAN ([Orcid ID: 0000-0002-7089-7111](https://orcid.org/0000-0002-7089-7111)), Kafkas University, Department of Chemistry, Kars, Türkiye.

²Ümit YILDIKO ([Orcid ID: 0000-0001-8627-9038](https://orcid.org/0000-0001-8627-9038)), Kafkas University, Department of Bioengineering, Kars, Türkiye.

³Veysel TAHİROĞLU * ([Orcid ID: 0000-0003-3516-5561](https://orcid.org/0000-0003-3516-5561)), Şırnak University, Faculty of Health Sciences, Department of Nursing, Şırnak, Türkiye.

****Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Veysel TAHİROĞLU, e-mail: veysel.tahiroglu@sirnak.edu.tr

INTRODUCTION

Chemistry has historically been an experimental discipline. Previously, before working with any molecule, it was investigated in its natural state or manufactured (Goh et al., 2017). These research have been carried out owing to advancements in computer hardware and software, and investigations in the field of computational chemistry have been carried out more readily without such constraints (Kaltsoyannis, 2018). In this manner, the computational investigation of a molecule whose characteristics are sought to be evaluated is possible. Theoretical chemistry is a discipline of chemistry that uses mathematical approaches to describe chemistry (Pyykkö, 2005). Computational chemistry is a discipline of chemistry that uses computer hardware and software to solve chemical issues (Rupp et al., 2018). In general, theoretical chemists tackle chemical issues largely with software or programs that employ mathematical methods, and they interpret the results obtained with these software or programs, so forming a link between experimental and theoretical chemistry (Pang & Reed, 1998). To compute the structure and characteristics of molecules, they frequently employ theoretical chemistry methods. In computational chemistry, in addition to stable molecules, unstable, short-lived products, and even intermediate intermediates can be explored, as well as their transition states (Topsom, 1983). The results of computational chemistry are often understood as the outcome of experimental investigations, and sometimes undiscovered chemical events can be anticipated (Cuesta et al., 2006).

Hugo Schiff described process of condensation between an aldehyde and an amine to produce a Schiff base. Because of the presence of the imine group, Schiff bases are employed to understand the transformation process of the racemization reaction in biological systems (da Silva et al., 2011). It exhibits anticancer, antibacterial, antifungal, herbicidal, and other effects as a result of the existence of the azomethine linkage ($>C=N-$) in living systems. Various biological activities, such as, are being studied. Because of their potent antibacterial, antifungal, and antiviral activities, several Schiff derivatives are effective medicinal medicines (Berhanu et al., 2019). Furthermore, Schiff bases and their analogs are commonly utilized as model compounds to study the structure-activity connection of biomolecules and pharmacological molecules (Hodnett & Dunn, 1970).

Bis-Schiff base and Thiazolidinone are two "well-off" nitrogen-containing compounds with extensive use in medicines and pharmaceuticals. Anti-convulsant, anti-bacterial, anti-tuberculosis, anti-glycation, anti-epileptic scaffolds are some examples. It is capable of a diverse range of biological activities including (Preeti et al., 2023). A hybrid compound incorporating thiazolidinone bis-Schiff base systems is viewed as potential relevant, and its production under ecologically friendly circumstances is worth researching (Al-Sharif, 2023).

Quantum chemical computations are useful approaches for building NLO molecules and for predicting some features of novel supplies, like polarizability, molecular dipole moments, and hyperpolarizability (Assfeld & Rivail, 1996). We report the atomic structure, natural bond orbital (NBO) analysis and NLO, molecular electrostatic potential (MEP) maps, and molecular surfaces of the title molecule in the initial condition, as well as DFT using 6-311G++(d,p) and SDD basis sets, in this paper. The /B3PW91 procedure was used to do the necessary computations. The open DFT/B3PW91/ SDD/6-311G++(d,p) technique was utilized to determine whole energy, HOMO and LUMO energies, $\Delta E_{LUMO-HOMO}$ energies, and $\Delta E_{LUMO-HOMO}$ energies.

Urease is a nickel-rely metalloenzyme which catalyzes the urea deteriorate, producing carbon dioxide and ammonia. Changing the pH of an aqueous solution to allow *Helicobacter pylori* to produce ammonia boosted the bacteria's survivability (Mobley, 2001). In addition, *Helicobacter pylori* has been found to be the fundamental root of a variety gastroduodenal dysfunctions. These illnesses include

duodenal ulcers, stomach cancer, peptic ulcers, and urinary catheter encrustation (Tabatabai & Bremner, 1972). Urease inhibitors can shield you in the case of ureolytic infections caused by bacteria. Maintain control over urea degradation. Because of the biological importance of organic heterocyclic compounds that serve as, medicinal chemists, urease enzyme inhibitors have spent a substantial time and effort developing novel heterocyclic urease inhibitors as prospective therapeutic alternatives (Qin & Cabral, 2002). For numerous decades, urea and hydroxamic acid compounds, coumarin, triazole, semicarbazone, Schiff bases, piperidine, and oxadiazole have been used to cure gastroduodenal illness by blocking the urea enzyme (Polacco & Holland, 1993). Antifreeze compounds have also been discovered and have piqued the interest of medical experts due to their ability to inhibit urease enzymes. The investigation of biological activity and pharmaceutical production are both heavily reliant on N-Containing Heterocyclic molecules (Callahan et al., 2005).

In our study, many DFT calculations of Thiazolidinone-Bis Schiff Base were performed using two methods and basis sets, including inter-orbital and inter-orbital bond interactions, HOMO-LUMO energy gaps, structural characterization of the molecule based on stable phase geometry, and Mulliken Atomic Charges. In this study, molecular modeling studies were also carried out and molecular docking results against cancer and urease enzymes were obtained.

MATERYAL VE METOT

The full DFT calculation was performed in Gaussian 09 program utilizing theory levels B3PW91/6-311++G(d,p)-SDD. The form of the generated compound has been modified as a first step in computer work. For Thiazolidinone-Bis Schiff Base, minimal energy sensitive to molecular shape shifts caused by nuclear location dislocation is required. The DFT approach of Gaussian 09 has been used for calculating the molecular structure of Thiazolidinone-Bis Schiff Base and the energies of the best geometries (Michael J. Frisch, 2016). The basis set is the Lee's-Yang-Parr association functional, which depends on the SDD software program. Molecular docking (Maestro Molecular Modeling system (versioning 11.8) of Schrödinger, LLC model) was employed to explore the exact interaction site and the ligand's method of action on the protein (Verma et al., 2023). The prior Ligprep module implementation was used to synthesis all compounds. Using the wizard module, protein preparation was halted to gather data. At this time, every molecule of water have been emptied from the structure of the crystal. This module was utilized to change the the protein ion concentration again, this time by by determining the protein's the site that was responsible to elastic binding. Mesh blocks served as the sensor grid compound's foundation, establishing circuits in protein site binding and permitting for variable docking. The slip inserting mechanism was utilised to create a ligand-protein docking approach. Using ligand-protein relationships, hydrogen bonds, and alkyl and alkyl connections, optimal binding energies were estimated. The lowest energy designs have the highest affinity for binding. Using Discovery Studio 4.5, the generated receptor model, as well as 2D and 3D interactions, were displayed (El-Hassab et al., 2020).

RESULTS AND DISCUSSION

Structure Details and Analysis

Table 1 shows the ideal structural variables determined utilising the DFT/B3PW91 approach and the 6-311++G(d,p) and SDD basis packages. B3PW91 has been utilized to compare bond lengths and angles optimized by the procedure to those optimized by the two basis sets. When the bond lengths between the molecule's C-O elements are determined using the two methodologies, B3PW91-6-311G++(d,p) is calculated as 1.204 in theory and basis set, and 1.240 in B3PW91-SDD theory and basis

set. The bond length was shorter in the first procedure. Both techniques can employ bond lengths in aromatic and aliphatic structures. Because of the delicate of the procedures, there has been minor variances between the procedures. Both strategies are comparable as shown in Table 1. The calculated C18–H41 (1.08427 Å) bond lengths is quite short contrasted to other bond distances. Bond lengths of C8–O18 (1.204), C8N7 (1.401), and C11S10 (1.772) in the thiazolidine ring were estimated using DFT. As seen in Table 1, both computed approaches agree with the bond angles. When the bond angles in the two approaches were compared, the largest difference was found in C8–N7–O11 atoms, whereas the biggest difference in dihedral structures was found in C13–C11–N29–O30 atoms.

Table 1. Some bond angles (°) and bond lengths (Å) of our theoretically examined molecule

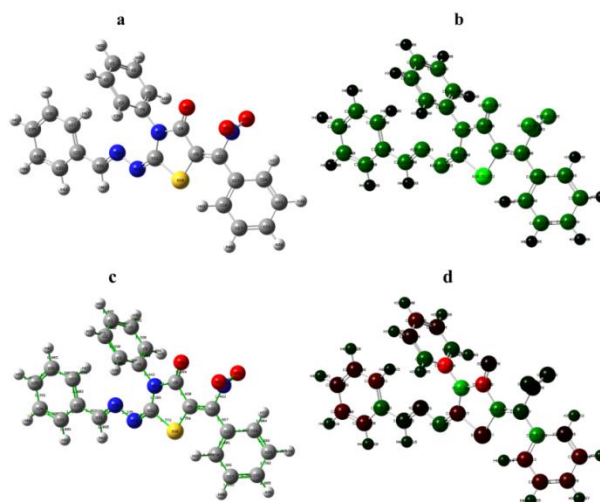
| Bond Lengths | B3PW91/ 6-311++G (d,p) | B3PW91/ SDD | Bond Lengths | B3PW91/ 6-311++G(d,p) | B3PW91/ SDD |
|-----------------------|---------------------------|----------------|-----------------------|--------------------------|----------------|
| C4-N7 | 1.44088 | 1.45127 | C21-C22 | 1.45685 | 1.46210 |
| C8-C9 | 1.48998 | 1.49058 | C23-C24 | 1.38990 | 1.40225 |
| C8-O28 | 1.20414 | 1.24038 | C25-C26 | 1.39568 | 1.40879 |
| C11-S10 | 1.77283 | 1.83280 | N29-O31 | 1.21036 | 1.26344 |
| C12-N29 | 1.49155 | 1.49710 | C18-H41 | 1.08427 | 1.08603 |
| N29-O30 | 1.21460 | 1.26829 | C14-H37 | 1.37067 | 1.08630 |
| C12-C13 | 1.46717 | 1.47296 | C16-H39 | 1.08489 | 1.08640 |
| C11-N19 | 1.27996 | 1.29135 | C21-H42 | 1.09488 | 1.09538 |
| N19-N20 | 1.37540 | 1.41311 | C23-H43 | 1.08630 | 1.08835 |
| N20-C21 | 1.28432 | 1.30540 | C26-H46 | 1.84342 | 1.08676 |
| Bond Angles | B3PW91/ 6-311++G (d,p) | B3PW91/ SDD | Bond Angles | B3PW91/ 6-311++G(d,p) | B3PW91/ SDD |
| C2-C1-C6 | 120.02979 | 120.01953 | C9-C12-C13 | 128.22986 | 128.94810 |
| C3-C4-N7 | 119.44571 | 119.37889 | O29-N30-O31 | 126.63555 | 125.61825 |
| C8-N7-C11 | 116.11596 | 117.06890 | C11-N19-N20 | 117.01025 | 118.03966 |
| N7-C8-O28 | 123.92858 | 123.46060 | N19-N20-C21 | 112.13906 | 111.55621 |
| C9-S10-N11 | 91.89163 | 90.77631 | N21-C22-C23 | 122.34262 | 118.91624 |
| Planar Bond Angles | B3PW91/ 6-311++G(d,p) | B3PW91/ SDD | Planar Bond Angles | B3PW91/ 6-311++G(d,p) | B3PW91/ SDD |
| C5-C4-N7-C8 | 88.31237 | 87.36642 | C13-C12-C9-S10 | -3.29187 | -4.25097 |
| C4-N7-C8-O28 | 1.69077 | 1.58244 | C11-N19-N20-C21 | -179.38472 | 179.96750 |
| C12-C9-C8-N28 | -4.48896 | -5.06280 | N19-N20-C21-C22 | 179.93651 | 179.95914 |
| C13-C11-N29-O30 | 90.35914 | 93.30635 | C21-C22-C27-C26 | -179.95949 | -179.97307 |

Mulliken Atomic Charges

Mulliken estimations of atomic charge are frequently used in quantum chemistry computations (Hratchian et al., 2008). Mulliken charge polarization, stability, electronic structure, and so on. It may be used to generate several ideas (Kar & Sannigrahi, 1988). It further demonstrates how molecular charge transfer and charge sharing may aid in the formation of electron donor-acceptor pairs (Parandekar et al., 2008). Mulliken loads for our compound were estimated using the theory and basis sets B3PW91/6-311G++(d,p) and B3PW91/SDD, and have been shown in Table 2. In addition, we obtained photos of a) Structure Optimization, b) Atomic Mass, c) Bond Lengths, and d) Mulliken Loads utilising the DFT/B3PW91/6-311++G(d,p) technical and basis set and provided them in Figure 1. S10 (-0.065)- (0.319) and N7 (0.775)-(-0.426) Mulliken charges are connected to the thiazolidine ring. As we've seen, certain C atoms are positive while others are negative. All of the hydrogen atoms recovered from Mulliken analysis have positive charges ranging from 0.1590.235. Nitrogen atoms N20 (-0.261), N29 (-0.354), and oxygen atoms O28 (-0.030) and O31 (-0.048) all have negative charges and operate just like acceptors of electrons.

Table 2. Mulliken atomic charges of Thiazolidinone-Bis Schiff Base

| ATOMS | B3PW91/ 6-311++G(d,p) | B3PW91/ SDD | ATOMS | B3PW91/ 6-311++G(d,p) | B3PW91/ SDD |
|-------|--------------------------|----------------|-------|--------------------------|----------------|
| C1 | -0.552 | -0.239 | N19 | 0.429 | -0.011 |
| C2 | 0.014 | -0.220 | N20 | -0.261 | -0.080 |
| C3 | 0.254 | -0.324 | N29 | -0.354 | 0.055 |
| C4 | -1.311 | 0.584 | O28 | -0.030 | -0.191 |
| C5 | 0.071 | -0.324 | O30 | 0.184 | -0.190 |
| C6 | -0.185 | -0.218 | O31 | -0.048 | -0.163 |
| N7 | 0.775 | -0.426 | H32 | 0.161 | 0.227 |
| C9 | -0.757 | -0.474 | H33 | 0.171 | 0.226 |
| S10 | -0.065 | 0.319 | H34 | 0.223 | 0.234 |
| C11 | -0.261 | -0.212 | H35 | 0.201 | 0.235 |
| C12 | 0.388 | 0.399 | H36 | 0.187 | 0.226 |
| C13 | 0.639 | 0.296 | H38 | 0.181 | 0.231 |
| C14 | -0.251 | -0.350 | H39 | 0.169 | 0.233 |
| C15 | -0.447 | -0.222 | H40 | 0.194 | 0.230 |
| C16 | -0.103 | -0.225 | H42 | 0.182 | 0.232 |
| C18 | -0.387 | -0.346 | H43 | 0.159 | 0.223 |

**Figure 1.** Thiazolidinone-Bis Schiff Base Compound with basis set DFT/B3PW91/6-311++G(d,p) a) Structure Optimization, b) Atomic Mass, c) Bond distance d) Mulliken Charge

HOMO and LUMO Analysis

Frontier orbitals of molecules are classified into two types: highest and occupied chemical orbits (HOMOs) and lowest and empty molecular orbitals (LUMOs) (Suhasini et al., 2015). According to frontier orbital theory, an inhibitor molecule's capacity to donate electrons is often tied to HOMO (Demir & Akman, 2017). High E_{HOMO} values demonstrate a molecule's capacity to give electrons. E_{LUMO} has demonstrated the capacity of molecules to take electrons. HOMO and LUMO frontier orbitals utilising the theory and sets DFT/B3PW91/6-311++G(d,p) and DFT/B3PW91/SDD of Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound are determined in Figure 2-3. Table 3 also includes the quantum chemical parameters derived using DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD techniques for the minimal energy forms of Thiazolidinone-Bis Schiff Base. In the two basis sets utilized in the molecule, the values estimated as $E_{\text{HOMO}}=-6.2669$ eV/ -6.3771 eV and $E_{\text{LUMO}}=-2.7752$ eV/ -2.9915 eV were found to be in close agreement. In the two sets employed, $E_{\text{HOMO}-1}=-6.6911$ eV/ -6.5657 eV and $E_{\text{LUMO}+1}=-2.3050$ eV/ -2.8144 eV were estimated for additional orbits. Molekülün HOMO ve Its interactions with other molecules are determined by its LUMO orbitals. Both approaches have an energy the gaps within the bands of 3.4917

eV and 3.3856 eV, with low overall values showing restricted strong chemical responsiveness and kinetic durability. The compound's band gaps are high in each approaches, showing that it is an insulator.

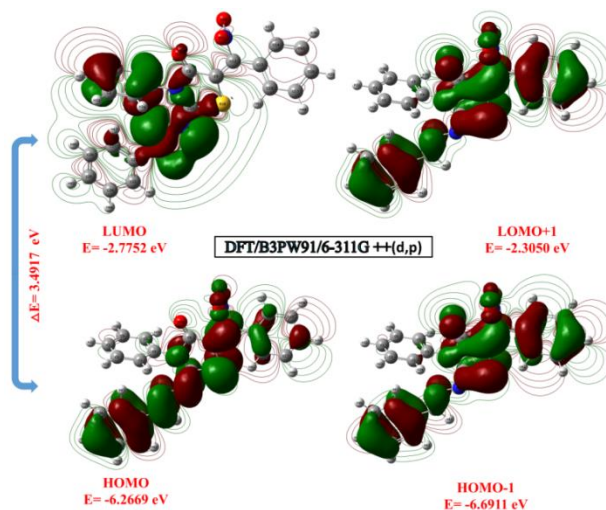


Figure 2. Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound boundary molecular orbitals measured utilising the DFT/B3PW91/6-311++G(d,p) level

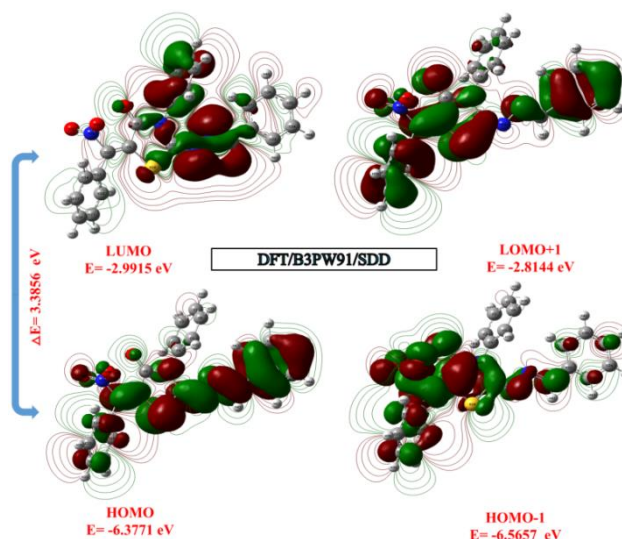


Figure 3. Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound boundary molecular orbitals calculated using the DFT/B3PW91/SDD level

Table 3. Determining quantum chemical variables (in eV) for low energy connections by DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD methods of the Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound

| Molecules Energy | | DFT/B3PW91/ 6-311++G(d,p) | DFT/B3PW91/ SDD |
|-------------------------------|---|------------------------------|--------------------|
| ELUMO | | -2.7752 | -2.9915 |
| EHOMO | | -6.2669 | -6.3771 |
| ELUMO+1 | | -2.3050 | -2.8144 |
| EHOMO-1 | | -6.6911 | -6.5657 |
| Energy Gap | $(\Delta E) E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}} $ | 3.4917 | 3.3856 |
| Ionization Potential | $(I = -E_{\text{HOMO}})$ | 6.2669 | 6.3771 |
| Electron Affinity | $(A = -E_{\text{LUMO}})$ | 2.7752 | 2.9915 |
| Chemical hardness | $(\eta = (I - A)/2)$ | 1.7458 | 1.6928 |
| Chemical softness | $(s = 1/2 \eta)$ | 0.8729 | 0.8464 |
| Chemical Potential | $(\mu = -(I + A)/2)$ | -4.5210 | -4.6843 |
| Electronegativity | $(\chi = (I + A)/2)$ | 1.8876 | 1.9957 |
| Electrophilicity index | $(\omega = \mu^2/2 \eta)$ | 5.8538 | 6.4811 |

Molecular Electrostatic Potential (MEP)

The molecular electrostatic potential (MEP) for Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound displays the compound's structure, magnitude, and electrical energy levels (Sertbakan, 2021). The examination of the physical features of the atomic structure becomes greatly helped by molecular electrostatic potential (MEP) mapping (Kuş, 2021). The molecule's region having adverse electrostatic energy is vulnerable to electrophilic attack (Ergan, 2021). Various electrostatic potential values on the interface are represented in shifting hues; red and yellow show the greatest negative area that is the favored location for electrophilic agents (Ak & Kebiroglu, 2023). As demonstrated in the blue and green sections, the maximal positive range, which is the desired range of nucleophilic reactivity, is depicted by zero potential (Alkorta & Villar, 1994). The MEP map of our molecule is depicted in Figure 4. The aromatic ring region looks to be neutral (green). MEP is frequently used as a reaction map to investigate electrophilic and nucleophilic reaction regions, along with hydrogen bond interactions in organic compounds. Figure 4 shows 3D plots of our compound's MEP utilizing DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD technic and foundation sets to estimate the reactive electrophilic and nucleophilic attack sites. Negative (red or yellow) parts of MEP indicate reactivity to electrophiles, whereas positive (blue) regions suggest reactivity to nucleophiles reactivity, like seen in Figure 4. These domains describe the area of the chemical where intermolecular interactions may occur. Based on these outcomes, we may conclude which H atoms have the greatest appealing, whereas O and N atoms have the most repulsive.

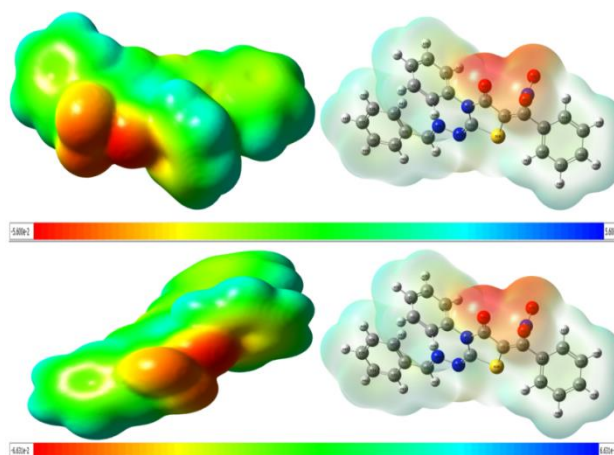


Figure 4. Molecular electrostatic potential surface of Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound using DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD methods and basis sets

Non-Linear Optical Properties (NLO)

The nonlinear optical (NLO) effect is regarded as the most important in the current study since it gives the fundamental roles of optical modification, optical changing, optical reason, and optical memory for upcoming communications networks, optical links and signals processing. The impact of the compound analyzed using DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD techniques on NLO characteristics were evaluated by calculating dipole moments (μ), polarizability, anisotropy of polarizability (α), and average first-order hyperpolarization (β) was calculated utilizing the finite field approach and is shown in Table 4. Because the GAUSSIAN09W output's average polarizability and average first-order hyperpolarizability have been presented in atomic units (a.u.), the estimated amounts were allocated to electrostatic units (esu) (α :1 a.u.= $0,1482 \times 10^{-24}$ esu; β :1 a.u.= $8,6393 \times 10^{-33}$ esu) (Mahmood et al., 2015). As is given in Table 4, the computed dipole moment for the DFT/B3PW91/6-311++G(d,p) stage was 5.3876, essentially regardless of the base set, and the greater dipole moment in

the examined compound was mostly due to this. The y component has the largest magnitude of the dipole moment. As shown in Table 4, diagonal components dominate the computed polarization values. The the computed polarizability and anisotropy of polarizability parameters are equal to 3.49×10^{-30} ve 3.53×10^{-30} esu for the DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD technic. The following equations (1-3) were utilized to computed the average polarizability (α), dipole moment (μ), and molecule hyperpolarizability parameters.

$$\mu = (\mu_x^2 + \mu_y^2 + \mu_z^2)^{1/2} \quad (1)$$

$$\beta_{Total} = (\beta^2 x + \beta^2 y + \beta^2 z)^{1/2} \quad (2)$$

$$= [(\beta_{xxx} + \beta_{xyy} + \beta_{xzz})^2 + (\beta_{yyy} + \beta_{yxx} + \beta_{yzz})^2 + (\beta_{zzz} + \beta_{zxx} + \beta_{zyy})^2]^{1/2} \quad (3)$$

Table 4. The polarizability (au), dipole moments (Debye), components, and total value of Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound are calculated utilising DFT/B3PW91/6-311++G(d,p)-DFT/B3PW91/SDD technique and basis sets

| Parameters | B3PW91/ 6-311G++(d,p) | B3PW91/ SDD | Parameters | B3PW91/ 6-311G++(d,p) | B3PW91/ SDD |
|---------------|--------------------------|----------------|---------------|--------------------------|------------------------|
| μ_x | -2.5215 | -3.5118 | β_{xxx} | 5.3987 | -26.5815 |
| μ_y | -4.7605 | -4.7615 | β_{yyy} | -57.1613 | -59.5056 |
| μ_z | -0.0780 | -0.0150 | β_{zzz} | 3.6908 | 4.8385 |
| $\mu(D)$ | 5.3876 | 5.9165 | β_{xyy} | -76.6193 | -82.0364 |
| α_{xx} | -149.8715 | -142.0664 | β_{xxy} | -134.5963 | -137.2040 |
| α_{yy} | -187.7894 | -183.5958 | β_{xxz} | -49.1712 | -46.1480 |
| α_{zz} | -187.6668 | -184.1032 | β_{xzz} | 16.0136 | 8.1528 |
| α_{xy} | -30.1883 | -28.8540 | β_{yzz} | 24.5644 | 23.2150 |
| α_{xz} | -4.2343 | -3.4767 | β_{yyz} | 8.6048 | 7.6956 |
| α_{yz} | -4.1991 | -3.7350 | β_{xyx} | -18.9666 | -19.5031 |
| α (au) | -181.375 | -182.456 | β (esu) | 3.49×10^{-30} | 3.53×10^{-30} |

NBO Analysis

NBO analysis was done on the optimized structures to further comprehend the intermolecular interactions in the LASP molecule. The Gaussian 09W program package's NBO analysis software was utilized. The DFT/B3PW91/6-311++G(d,p) assumption is employed in the comparisons in Table 4 to indicate the percentages of individual bond electrons in various bonds, as well as variations in the percentages of electrons in the s, p, and d orbitals in each atom (Kurt et al., 2011). For Thiazolidinone-Bis Schiff Base, a quadratic equation is applied. The relationship between the recipient (j) and the transmitter (i) has been estimated utilising Fock matrix (Govindarajan & Karabacak, 2012). For every donor (i) and receiver (j), the stabilizing value related to delocalization is projected to be as follows (Sosa et al., 2002).

$$E(2) = \Delta E_{ij} = q_i \frac{(F_{ij})^2}{(\epsilon_i - \epsilon_j)} \quad (4)$$

Natural bond orbital (NBO) studies is a powerful method for investigating intramolecular and intermolecular bonds, addition to the interaction between bonds. It also serves like a solid platform to investigating charge transfer or conjugative interaction in molecular structures (Eşme & Sağdıç, 2017). The second-order Fock matrix has been used to examine various sorts of donor-acceptor connections and their NBO-based balancing powers. The interaction results in a absence of occupation from the hypothetical Lewis structure's localized NBO to an empty non-Lewis orbital. The balancing powers E(2) Concerned with electron delocalization between donor and acceptor for every one donor NBO (i) and acceptor NBO (j) is given by where i q is the donor-orbital occupancy, j and i are diagonal orbital elements is approximated as follows (Kolandaivel & Nirmala, 2004). The bigger the value of E(2), the

the stronger the connection between electron donors and acceptors, i.e., the higher the proclivity of electron electrons to be donated by donors and the higher the degree of the pairing of Acceptors and the overall network (Pathak et al., 2015). Table 5 shows the results of NBO analysis to reveal the intramolecular interaction, rehybridization, and delocalization of electron density inside the structure. The stability energies of our molecule have been estimated utilising second-order perturbation analysis to study the intramolecular interaction. There is a substantial intramolecular hyperconjugative contact of σ -electrons with larger energy contributions than C4 in the molecule C1–C6→C4–C5 (44.87 kcal/mol for DFT/B3PW91 level). N29–O31 (16.29 kcal/mol for DFT/B3PW91 level), C22–C23→N20–C23 (22.24 kcal/mol for DFT/B3PW91 level), C2–C3 (44.87 kcal/mol for DFT/B3PW91 level). C11–N19→N20–C21 has a DFT/B3PW91 level of 16.45 kcal/mol.

Table 5. Selected NBO results of Thiazolidinone-Bis Schiff Base are determined utilising the 6-311++G(d,p) basis set utilising the DFT/B3PW91 technique

| NBO(i) | Type | Occupancies | NBO(j) | Type | Occupancies | E(2) ^a (Kcal/mol) | E (j)-E(i) ^b (a.u.) | F (i, j) ^c (a.u) |
|---------|----------|-------------|---------|------------|-------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| C1-C2 | σ | 1.98005 | C2-C3 | σ^* | 0.32065 | 4.28 | 1.78 | 0.078 |
| C1-C6 | σ | 1.98007 | C5-C6 | σ^* | 0.01581 | 4.28 | 1.78 | 0.078 |
| C1-C6 | π | 1.66059 | C4-C5 | π^* | 0.35534 | 44.87 | 0.47 | 0.130 |
| C2-C3 | σ | 1.97657 | C3-C4 | σ^* | 0.02356 | 4.70 | 1.78 | 0.082 |
| C2-C3 | π | 1.65582 | C1-C6 | π^* | 0.01612 | 43.22 | 0.47 | 0.128 |
| C3-H34 | σ | 1.98248 | C3-C4 | σ^* | 0.02356 | 3.73 | 1.55 | 0.068 |
| C3-C4 | σ | 1.97592 | C4-C5 | σ^* | 0.35534 | 6.78 | 1.80 | 0.098 |
| C4-C5 | σ | 1.97594 | C5-C6 | σ^* | 0.01581 | 4.29 | 1.80 | 0.079 |
| C4-C5 | π | 1.67326 | C2-C3 | π^* | 0.32065 | 42.89 | 0.49 | 0.130 |
| N7-C8 | σ | 1.98355 | N7-C11 | σ^* | 0.05578 | 3.71 | 1.62 | 0.070 |
| C5-C6 | σ | 1.97659 | C8-S10 | σ^* | 0.02270 | 5.18 | 1.52 | 0.079 |
| N7-C8 | σ | 1.98355 | C11-N19 | σ^* | 0.01089 | 4.36 | 1.89 | 0.081 |
| C8-C9 | σ | 1.97691 | C9-C12 | σ^* | 0.16866 | 6.76 | 1.82 | 1.82 |
| C8-O28 | π | 1.98360 | C9-C12 | π^* | 0.16866 | 6.07 | 0.68 | 0.060 |
| C9-S10 | σ | 1.96971 | C12-N29 | σ^* | 0.08210 | 6.90 | 1.31 | 0.086 |
| C9-C12 | π | 1.91573 | C8-O28 | π^* | 0.20382 | 22.24 | 0.59 | 0.105 |
| S10-C11 | σ | 1.97211 | N19-C21 | σ^* | 0.00537 | 6.37 | 1.48 | 0.087 |
| C11-N19 | π | 1.99207 | N20-C21 | π^* | 0.11946 | 16.45 | 0.66 | 0.094 |
| C12-C13 | σ | 1.96861 | N29-O31 | π^* | 0.54467 | 2.27 | 0.89 | 0.046 |
| C13-C14 | σ | 1.97185 | C13-C18 | σ^* | 0.02375 | 6.50 | 1.75 | 0.095 |
| C13-C18 | π | 1.66149 | C9-C12 | π^* | 0.16866 | 17.06 | 0.47 | 0.084 |
| C14-C15 | π | 1.97872 | C16-C17 | π^* | 0.31551 | 43.97 | 0.48 | 0.131 |
| C15-C16 | σ | 1.98041 | C14-C15 | σ^* | 0.01569 | 4.27 | 1.78 | 0.078 |
| C16-C17 | π | 1.64248 | C13-C18 | π^* | 0.38398 | 50.02 | 0.46 | 0.136 |
| C17-C18 | σ | 1.97858 | C13-C18 | σ^* | 0.02375 | 5.13 | 1.75 | 0.085 |
| N19-N20 | σ | 1.97938 | C21-C22 | σ^* | 0.02432 | 4.48 | 1.78 | 0.080 |
| N20-C21 | π | 1.99168 | C22-C23 | π^* | 0.37189 | 11.28 | 0.59 | 0.079 |
| C22-C23 | σ | 1.97485 | N20-C23 | σ^* | 0.00537 | 26.33 | 0.49 | 0.108 |

Molecular Docking Studies

A computer-generated 3D structure of small ligands has been docked into a receptor molecule in conformations, multiple orientations, and locations via molecular docking. This approach is important in drug development and medicinal chemistry since it provides information on molecular recognition (Shoichet et al., 2002). Docking is now an essential component of Computer Aided Drug Design and Discovery (CADD). Conventional docking approaches have difficulties in semiflexible or static target and ligand processing (Abdelsattar et al., 2021). In the past decade, developments in computation, genomics, and proteomics have also resulted in the creation of several docking approaches that integrate protein-ligand adaptability and their many binding configurations. The flexibility of receptors allows for more precise binding posture predictions and a more reasonable representation of ligand and protein binding interactions (Baskaran & Ramachandran, 2012). Protein flexibility has been achieved through the use of protein ensembles or dynamic docking approaches. Schiff Thiazolidinone Molecular docking

results toward urease enzymes and cancer were obtained. The complexes of proteins of these enzymes have been discovered by investigating the online resource RSCB protein database for 4UXL and 4UBF. To establish the tying pattern of contacts with enzyme websites, molecular docking experiments were done using several technologies (AutoDock, Discovery Studio Visualizer). The docking score of the Thiazolidinone-Bis Schiff Base complex has shown in Table 6. The visualized findings for the molecule in issue, as well as the interaction and distances of the ligands, are shown in Figures 5 and 6. GLU-1997, LEU-2026, and MET-2001 are van der Waals bonded hydrogen in our compound's binding process. LYS-1980 (4.59 Å) is hydrogen bound using standard hydrogen bonds. VAL-1959 (5.75 Å) binds the Pi-Alkyl thiazolidine ring, while LEU-2086 (5.39 Å) and ALA-1978 (5.82 Å) bind the Pi-Alkyl nitrovinyl benzene ring. Unfavorable negative-negative ASP-2033 (5.39 Å). Carbon hydrogen bonds join ASP-2102 (3.51 Å) and GLY-2032 (3.41 Å).

Table 6. Docking score of Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound PDB: 4UXL and PDB: 4UBF

| Compound | Docking Score | |
|--------------------------------|---------------|-------------|
| | (PDB: 4UXL) | (PDB: 4UBF) |
| Thiazolidinone-Bis Schiff Base | -6.865 | -7.980 |

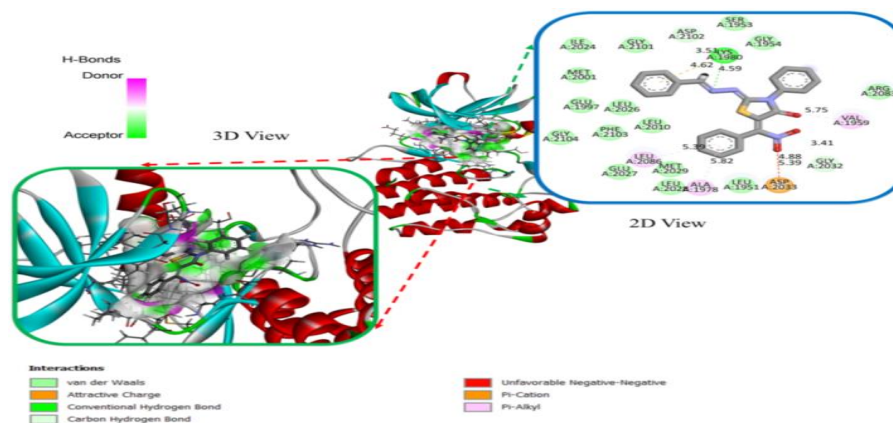


Figure 5. 3D illustration of the aromatic region of the receptor and a 2D picture of the 4UXL enzyme interactions

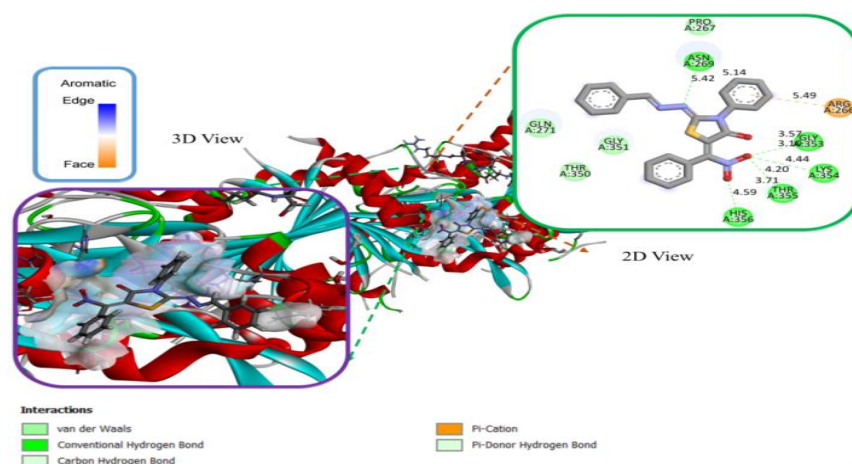


Figure 6. 3D illustration of the aromatic region of the receptor and a 2D picture of the 4UBF enzyme interactions

CONCLUSION

The Thiazolidinone-Bis Schiff Base compound was studied in depth using quantum chemical computations. The compound's structural structure was predicted using B3PW91/6-311G++(d,p) and B3PW91/SDD levels of approach. The structure's dihedral angles, bond lengths, and bond angles were

in theory specified building properties. The molecule's nonlinear optical characteristics have been also investigated. It was also established that the chemical under consideration might be employed for an NLO material. There are also HOMO-LUMO, Mulliken atomic charges, and MEP maps displayed. The Thiazolidinone-Bis Schiff Base molecule was also docked to examine the particular binding position and the ligand activity on the protein. Binding approaches were investigated after determining the appropriate exposure for total ligand-enzyme docking to better understand the inhibitory processes. The shift scores in binding affinity with 4UXL and 4UBF were determined in the research to be -6.865 kcal/mol and -7.980 kcal/mol. It is more effective with the 4UBF binding receptor score. Because this molecular structure has strong therapeutic potential, we believe it may be utilized to produce innovative drugs for cancer and urease therapy, in addition to a novel enzyme inhibitor option.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article

REFERENCES

- Abdelsattar, A. S., Dawoud, A., & Helal, M. A. (2021). Interaction of nanoparticles with biological macromolecules: a review of molecular docking studies. *Nanotoxicology*, *15*(1), 66-95.
- Ak, F., & Kebiroglu, H. (2023). Molecular Structure, Geometry Properties, HOMO-LUMO, and MEP Analysis of Acrylic Acid Based on DFT Calculations. *Journal of Physical Chemistry and Functional Materials*, *6*(2), 92-100.
- Al-Sharif, M. S. (2023). 2,4-dihydroxybenzaldehyde based Schiff base derivatives as an effective corrosion inhibitor for steel corrosion in 1 M hydrochloric acid solution. *International Journal of Electrochemical Science*, *18*(12), 100384.
- Alkorta, I., & Villar, H. O. (1994). Molecular electrostatic potential of D1 and D2 dopamine agonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, *37*(1), 210-213.
- Assfeld, X., & Rivail, J.-L. (1996). Quantum chemical computations on parts of large molecules: the ab initio local self consistent field method. *Chemical Physics Letters*, *263*(1), 100-106.
- Baskaran, C., & Ramachandran, M. (2012). Computational molecular docking studies on anticancer drugs. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *2*, S734-S738.
- Berhanu, A. L., Gaurav, Mohiuddin, I., Malik, A. K., Aulakh, J. S., Kumar, V., & Kim, K.-H. (2019). A review of the applications of Schiff bases as optical chemical sensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *116*, 74-91.
- Callahan, B. P., Yuan, Y., & Wolfenden, R. (2005). The Burden Borne by Urease. *Journal of the American Chemical Society*, *127*(31), 10828-10829.
- Cuesta, I. G., Pedersen, T. B., Koch, H., & Sánchez de Merás, A. (2006). Carbon Nanorings: A Challenge to Theoretical Chemistry. *ChemPhysChem*, *7*(12), 2503-2507.
- da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martins, C. V. B., & de Fátima, Â. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research*, *2*(1), 1-8.
- Demir, P., & Akman, F. (2017). Molecular structure, spectroscopic characterization, HOMO and LUMO analysis of PU and PCL grafted onto PEMA-co-PHEMA with DFT quantum chemical calculations. *Journal of Molecular Structure*, *1134*, 404-415.

- El-Hassab, M. A. E.-M., El-Bastawissy, E. E., & El-Moselhy, T. F. (2020). Identification of potential inhibitors for HCV NS5b of genotype 4a by combining dynamic simulation, protein–ligand interaction fingerprint, 3D pharmacophore, docking and 3D QSAR. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38(15), 4521-4535.
- Ergan, E. (2021). Theoretical Studies via DFT Calculation of Pyrimidine Derivatives as Potential Corrosion Inhibitor [Potansiyel Korozyon İnhibitörü Olarak Pirimidin Türevlerinin DFT Hesaplaması ile Teorik Çalışmalar]. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(3), 2142-2151.
- Eşme, A., & Sağdıç, S. G. (2017). Spectroscopic (FT–IR, FT–Raman, UV–Vis) analysis, conformational, HOMO-LUMO, NBO and NLO calculations on monomeric and dimeric structures of 4-pyridazinecarboxylic acid by HF and DFT methods. *Journal of Molecular Structure*, 1147, 322-334.
- Goh, G. B., Hodas, N. O., & Vishnu, A. (2017). Deep learning for computational chemistry. *Journal of Computational Chemistry*, 38(16), 1291-1307.
- Govindarajan, M., & Karabacak, M. (2012). Spectroscopic properties, NLO, HOMO–LUMO and NBO analysis of 2,5-Lutidine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 96, 421-435.
- Hodnett, E. M., & Dunn, W. J. (1970). Structure-antitumor activity correlation of some Schiff bases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 13(4), 768-770.
- Hratchian, H. P., Parandekar, P. V., Raghavachari, K., Frisch, M. J., & Vreven, T. (2008). QM:QM electronic embedding using Mulliken atomic charges: Energies and analytic gradients in an ONIOM framework. *The Journal of Chemical Physics*, 128(3).
- Kaltsoyannis, N. (2018). Transuranic Computational Chemistry. *Chemistry – A European Journal*, 24(12), 2815-2825.
- Kar, T., & Sannigrahi, A. B. (1988). Effect of basis set on Mulliken and Löwdin atomic charges, bond orders and valencies of some polar molecules. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 165(1), 47-54.
- Kolandaivel, P., & Nirmala, V. (2004). Study of proper and improper hydrogen bonding using Bader's atoms in molecules (AIM) theory and NBO analysis. *Journal of Molecular Structure*, 694(1), 33-38.
- Kurt, M., Babu, P. C., Sundaraganesan, N., Cinar, M., & Karabacak, M. (2011). Molecular structure, vibrational, UV and NBO analysis of 4-chloro-7-nitrobenzofurazan by DFT calculations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(5), 1162-1170.
- Kuş, N. (2021). Orbital Interactions and Stabilization Energies of Methyl 5-6 Dihydro Benzo(H) Quinoline-4-Carboxylate [Orbital interactions and stabilization energies of methyl 5-6 dihydro benzo(h) quinoline-4-carboxylate]. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi B - Teorik Bilimler*, 9(Iconat Special Issue 2021), 74-84.
- Mahmood, A., Khan, S. U.-D., Rana, U. A., Janjua, M. R. S. A., Tahir, M. H., Nazar, M. F., & Song, Y. (2015). Effect of thiophene rings on UV/visible spectra and non-linear optical (NLO) properties of triphenylamine based dyes: a quantum chemical perspective. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 28(6), 418-422.
- Michael J. Frisch, T., G.W, Bernhard Schlegel, Gustavo Scuseria. (2016). *Gaussian 09*. In *Revision E.01*
- Mobley, H. L. T. (2001). Urease. In *Helicobacter pylori* (pp. 177-191).

- Pang, Z.-H., & Reed, M. (1998). Theoretical Chemical Thermometry on Geothermal Waters: Problems and Methods. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62(6), 1083-1091.
- Parandekar, P. V., Hratchian, H. P., & Raghavachari, K. (2008). Applications and assessment of QM:QM electronic embedding using generalized asymmetric Mulliken atomic charges. *The Journal of Chemical Physics*, 129(14).
- Pathak, S. K., Srivastava, R., Sachan, A. K., Prasad, O., Sinha, L., Asiri, A. M., & Karabacak, M. (2015). Experimental (FT-IR, FT-Raman, UV and NMR) and quantum chemical studies on molecular structure, spectroscopic analysis, NLO, NBO and reactivity descriptors of 3,5-Difluoroaniline. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 135, 283-295.
- Polacco, J. C., & Holland, M. A. (1993). Roles of Urease in Plant Cells. In K. W. Jeon & J. Jarvik (Eds.), *International Review of Cytology* (Vol. 145, pp. 65-103). Academic Press.
- Preeti, Jaiswal, A., Kumar, M., & Singh, K. N. (2023). An Efficient Combinatorial Synthesis of Novel Thiazolidinone-Bis Schiff Base Hybrids Using One-Pot Multicomponent Reaction. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 12(2), e202200629.
- Pyykkö, P. (2005). Theoretical chemistry of gold. II. *Inorganica Chimica Acta*, 358(14), 4113-4130.
- Qin, Y., & Cabral, J. M. S. (2002). Review Properties and Applications of Urease. *Biocatalysis and Biotransformation*, 20(1), 1-14.
- Rupp, M., Von Lilienfeld, O. A., & Burke, K. (2018). Guest Editorial: Special Topic on Data-Enabled Theoretical Chemistry. *The Journal of Chemical Physics*, 148(24).
- Sertbakan, T. R. (2021). 4-Amino-2-Metil-7(Triflorometil)Kinolin Molekülünün Bazı Özelliklerinin Deneysel ve Teorik Spektroskopik Yöntemlerle İncelenmesi [Investigation of some properties of 4-amino-2-methyl-7(trifluoromethyl)quinoline molecule by experimental and theoretical spectroscopic methods]. *Journal of Anatolian Physics and Astronomy*, 1(2), 46-64.
- Shoichet, B. K., McGovern, S. L., Wei, B., & Irwin, J. J. (2002). Lead discovery using molecular docking. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6(4), 439-446.
- Sosa, G. L., Peruchena, N. M., Contreras, R. H., & Castro, E. A. (2002). Topological and NBO analysis of hydrogen bonding interactions involving C-H...O bonds. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 577(2), 219-228.
- Suhasini, M., Sailatha, E., Gunasekaran, S., & Ramkumaar, G. R. (2015). Vibrational and electronic investigations, thermodynamic parameters, HOMO and LUMO analysis on Lornoxicam by density functional theory. *Journal of Molecular Structure*, 1100, 116-128.
- Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1972). Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 4(4), 479-487.
- Topsom, R. D. (1983). Contribution of theoretical chemistry to an understanding of electronic substituent effects. *Accounts of Chemical Research*, 16(8), 292-298.
- Verma, A., Kumar, V., Naik, B., Masood Khan, J., Singh, P., Erik Joakim Saris, P., & Gupta, S. (2023). Screening and molecular dynamics simulation of compounds inhibiting MurB enzyme of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis: An in-silico approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(8), 103730.

Atıf İçin: Maraş, S. (2024). Sentaktik Köpük Eğri Kirişlerin Diferansiyel Quadrature Metodu ile Serbest Titreşim Analizi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 835-847.

To Cite: Maraş, S. (2024). Free Vibration Analysis of Syntactic Foam Curved Beams by Differential Quadrature Method. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 835-847.

Sentaktik Köpük Eğri Kirişlerin Diferansiyel Quadrature Metodu ile Serbest Titreşim Analizi

Sinan MARAŞ

Öne Çıkanlar:

- Sentaktik köpük
- Titreşim analizi
- Diferansiyel quadrature metodu

Anahtar Kelimeler:

- Sentaktik köpük
- Titreşim analizi
- Nümerik analiz
- Diferansiyel quadrature metodu

ÖZET:

Bu çalışmada, iki ucu basit mesnetli sınır şartına sahip sentaktik köpük eğri kirişlerin serbest titreşim analizleri Diferansiyel Quadrature metodu (DQM) ile nümerik olarak incelenmiştir. Yer değiştirme alanı, klasik kiriş teorisine göre ifade edilmiş; Newton'un hareket yasaları kullanılarak hareket denklemleri elde edilmiştir. Bu amaçla, MATLAB kullanılarak bir DQM kodu geliştirilmiş ve epoksi/cam mikro balon (MB) bazlı sentaktik köpük eğri kirişlerin MB hacim oranları, MB yoğunlukları gibi malzeme parametrelerinin ve eğrilik açısı ve eğrilik yarıçapı gibi geometrik parametrelerinin serbest titreşim analizi üzerindeki etkilerini incelemek için yapıların doğal frekansları elde edilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar, MB hacim oranlarının, yoğunluklarının ve eğri kirişin geometrik özelliklerinin sentaktik köpük eğri kirişlerin titreşim davranışlarını önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır.

Free Vibration Analysis of Syntactic Foam Curved Beams by Differential Quadrature Method

Highlights:

- Syntactic foam
- Vibrations analysis
- Differential quadrature method

Keywords:

- Syntactic foam
- Vibration analysis
- Numerical analysis
- Differential quadrature method

ABSTRACT:

In this study, the free vibration analysis of syntactic foam curved beams with two simply supported ends was numerically investigated by the Differential Quadrature Method (DQM). The displacement field was expressed according to classical beam theory, and motion equations were derived by Newton's laws of motion. For this purpose, a DQM code was developed using MATLAB, and the natural frequencies of structures were obtained to examine the effects of material parameters such as microballoon (MB) volume fractions, MB densities, as well as geometric parameters like curvature angle and curvature radius on the free vibration analysis of epoxy/glass microballoon-based syntactic foam curved beams. The results obtained from the research indicate that MB volume fractions, densities, and the geometric characteristics of curved beams significantly influence the vibration behavior of syntactic foam curved beams.

GİRİŞ

Kompozit malzemeler, diğer birçok malzemeye kıyasla üstün özelliklere sahip olmaları sebebiyle günümüzde mühendislik alanında birçok yapıda kullanılmaktadır. Bu özellikler arasında rijitlik, enerji yutma kapasitesi, yorulma dayanımı, aşınma direnci ve korozyon direnci gibi faktörler bulunmaktadır. Matris içerisinde elyaflar rastgele, tek yönlü veya farklı türden elyaflar şeklinde takviye edilmiş olabilmektedir. Kompozit malzemelerin çeşitli yüklenme koşullarında kullanılabilmesi için mekanik özelliklerini ve tabakaların yönlendirme açılarını değiştirme olanağı vardır. Bu yapısal değişiklikler, günümüzde otomobil, uçak ve uzay endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bu malzemelerin titreşim davranışlarının araştırılmasını gerektirir. Kompozit yapıların dinamik davranışlarının incelenmesi hususunda birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda malzeme ve geometrik parametrelerin, yapının enerji yutma kapasitesi, doğal frekans ve mod şekilleri gibi dinamik davranışı üzerindeki etkileri nümerik (Galerkin metodu, Hamilton prensibi, Sonlu elemanlar yöntemi, Ritz yöntemi, Diferansiyel Quadrature metodu vb.) ve deneysel olarak incelenmiştir. Srinivasa ve ark., 2014; Osman ve Suleiman, 2017).

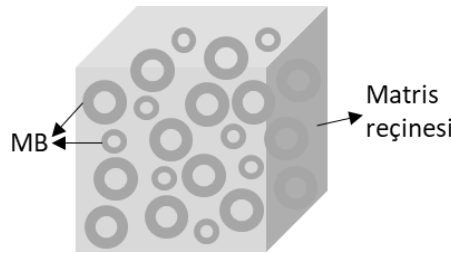
Düz kiriş ve plakalardan farklı olarak titreşim karakteristiklerinin analizi daha kompleks olan ve uçak, otomobil, savunma sanayi vb. alanlarda kullanılan kompozit eğri kirişlerin dinamik analizlerinin incelenmesi oldukça önemlidir. Literatürde bu yapıların titreşim ve elastik kararlılıkları ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Tabakalı kompozit eğri kirişlerin statik ve titreşim analizi hususunda klasik kiriş teorisi, birinci mertbe kayma deformasyon teorisi, yüksek mertbe kayma deformasyon teorisi gibi teoriler kullanılarak hareket denklemleri elde edilmiş ve bu denklemler Ritz, Galerkin, sonlu elemanlar yöntemleri gibi nümerik yöntemler kullanılarak çözülmüştür. Farklı sınır şartlarının, tabaka dizilişlerinin ve eğri kiriş geometrik parametrelerinin doğal frekanslar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. (M. Qatu, 1992; Kadioglu ve Iyidogan, 2009; Hajianmaleki ve Qatu, 2012). Sayyad ve Avhad (2022), yüksek mertbeden kiriş teorisi kullanarak, enine kayma ve normal gerilmelerin etkilerini hesaba katan, yani kalınlık gerilmesi etkilerini içeren eğri bir kirişin serbest titreşim analizini gerçekleştirmişlerdir. Moghaddasi ve Kiani (2022), grafen plakalarla takviye edilmiş tabakalı kompozit eğri kirişin serbest titreşim ve zorlanmış titreşim tepkilerini incelemişlerdir. Eğri kirişin tabaka sayısındaki, eğrilik yarıçapındaki, tabaka kalınlığındaki ve kiriş uzunluğundaki değişimlerin doğal frekanslar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Karamanli ve ark. (2023), çeşitli kayma deformasyon teorilerini kullanarak fonksiyonel derecelendirilmiş eğri kirişlerin bükülme, serbest titreşim ve burkulma tepkilerini sonlu eleman metodu ile araştırmışlardır.

Son yıllarda, matris elemanına küresel boş mikro balonlar dahil edilerek oluşturulan kompozit malzemeler geliştirilmiştir. Sentaktik köpük (SK), iki fazlı kapalı hücreli kompozit malzemelerdir (Şekil 1). Bu malzemeler, düşük yoğunluklu boş mikro taneciklerin (mikro balonlar) matris malzemesine eklenmesiyle elde edilmektedir.

SK'lerdeki MB malzemeleri metaller, seramikler, cam, polimerler, karbon vb. olabilir. Matris malzemeleri olarak silikonlar, fenolik reçineler, polyesterler, poliüretanlar, epoksi reçineler vb. polimerler kullanılmaktadır (Anirudh ve ark., 2022).

SK, yüksek hasar toleransı, düşük nem emme, yüksek sönümlenme kapasitesi, yüksek sertlik, yüksek özgül mukavemet ve mükemmel ısı yalıtımı gibi faydalı özelliklere sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle son yıllarda otomotiv, denizcilik, sönümlenme panelleri, havacılık ve çarpışma güvenliği gibi uygulamalarda kullanımı giderek artmaktadır (Gupta ve ark., 2010; Skoptsov ve ark., 2016; Anirudh ve ark., 2022).

Literatürde SK'ler ile ilgili yayınlanmış çalışmalar incelendiğinde bu yapıların eğilme, basma, çekme, enerji soğurma, düşük hızlı darbe davranışları gibi mekanik testlerinin genellikle deneysel olarak yapıldığı görülmektedir (Gupta ve ark., 2008; Poveda ve ark., 2014; Liang ve ark., 2017). SK'lerin serbest titreşim analizi, doğal frekansları, mod şekilleri ve sönümlenme özelliklerinin belirlenmesi tasarım aşamasında oldukça büyük önem arz etmektedir. Bu nedenlerden dolayı bu malzemelerin serbest titreşim analizi mühendislik tasarımı için gereklidir. SK'lerin mekanik özelliklerinin incelenmesi üzerine çalışmalar olmasına rağmen, yazarların bilgisi dahilinde bu malzemelerden oluşan eğri kiriş yapıların deneysel ve nümerik yöntemlerle dinamik özelliklerini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, literatüre katkı sağlamak amacıyla, epoksi/cam MB bazlı SK eğri kirişlerin MB yoğunluklarının ve hacim oranlarının serbest titreşim davranışı üzerindeki etkileri DQM kullanılarak nümerik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 1. Sentaktik köpük mikro yapısının şematik gösterimi

MATERYAL VE METOT

DQM, ilk olarak Bellman ve Casti (Bellman ve Casti, 1971) tarafından önerilmiş ve kısmi diferansiyel denklemlerin çözümünde diğer sayısal metotlara göre daha az düğüm kullanarak yaklaşık sonuçlar üretmiştir. Bu metot, belirli bir ayrık noktadaki bir uzay değişkenine göre bir fonksiyonun kısmi türevini hesaplarken, o değişkenin bölgesindeki tüm ayrık noktaların fonksiyon değerlerini ağırlıklı olarak doğrusal bir toplam olarak yaklaşıtır (Siddiqi, 1995). İki boyutlu bir $f(x, y)$ fonksiyonunun (x_i, y_j) ayrık noktaları için, r 'inci mertebeden x 'e göre kısmi türevi, s 'inci mertebeden y 'ye göre kısmi türevi ve r 'inci ve s 'inci mertebelerden x 'e ve y 'ye göre kısmi türev ifadeleri aşağıdaki gibi verilebilir.

$$\left. \frac{\partial^r f}{\partial x^r} \right|_{x=x_i} = \sum_{k=1}^{N_x} A_{ik}^{(r)} f(x_k, y_j); r = 1, 2, 3, \dots, N_x - 1 \quad (1)$$

$$\left. \frac{\partial^s f}{\partial y^s} \right|_{y=y_j} = \sum_{k=1}^{N_y} B_{ik}^{(s)} f(x_i, y_k); s = 1, 2, 3, \dots, N_y - 1 \quad (2)$$

$$\left. \frac{\partial^{(r+s)} f}{\partial x^r \partial y^s} \right|_{x_i y_j} = \frac{\partial^r}{\partial x^r} \left(\frac{\partial^s f}{\partial y^s} \right) = \sum_{k=1}^{N_x} A_{ik}^{(r)} \sum_{m=1}^{N_y} B_{jm}^{(s)} f(x_k, y_m); i = 1, 2, \dots, N_x; j = 1, 2, \dots, N_y \quad (3)$$

Burada, N_x ve N_y , sırasıyla x koordinat yönündeki düğüm sayısını ve y koordinat yönündeki düğüm sayısını ifade etmektedir. Burada, $f(x, y)$ fonksiyonunun r 'inci mertebeden x -kısmi türevi ve s 'inci mertebeden y -kısmi türevi için ağırlık katsayıları sırasıyla $A_{ij}^{(r)}$ ve $B_{ij}^{(s)}$ ifadeleri ile temsil edilmektedir. Bu ifadeler aşağıda verildiği gibidir (Bellman ve Casti, 1971; Siddiqi, 1995).

$$A_{ij}^{(r)} = r \left[A_{ii}^{(r-1)} A_{ij}^{(1)} - \frac{B_{ij}^{(r-1)}}{x_i - x_j} \right]; i, j = 1, 2, \dots, N_x, j \neq i \text{ ve } r = 2, 3, \dots, N_x - 1 \quad (4)$$

$$B_{ij}^{(s)} = s \left[B_{ii}^{(s-1)} B_{ij}^{(1)} - \frac{B_{ij}^{(s-1)}}{y_i - y_j} \right]; i, j = 1, 2, \dots, N_y, j \neq i \text{ ve } s = 2, 3, \dots, N_y - 1 \quad (5)$$

$$A_{ij}^{(r)} = - \sum_{j=1, j \neq i}^{N_x} A_{ij}^{(r)}; \quad i = 1, 2, \dots, N_x \quad \text{ve} \quad r = 1, 2, \dots, N_x - 1 \quad (6)$$

$$B_{ij}^{(s)} = - \sum_{j=1, j \neq i}^{N_y} B_{ij}^{(s)}; \quad i, j = 1, 2, \dots, N_y \quad \text{ve} \quad s = 1, 2, \dots, N_y - 1 \quad (7)$$

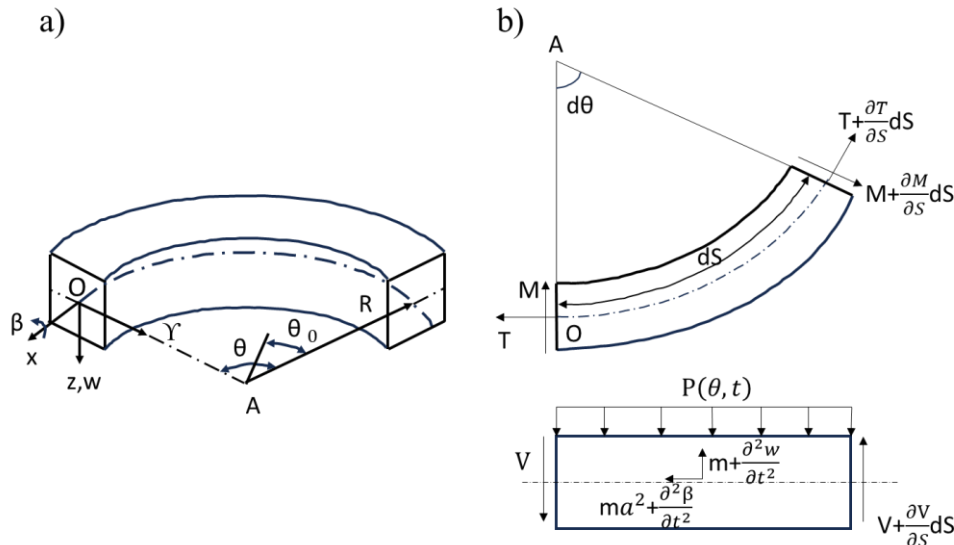
Düğüm noktalarının seçimi için aşağıda verilen ifadeler kullanılmaktadır (Siddiqi, 1995).

$$x_i = \frac{1}{2} \left[1 - \cos \frac{(i-1)\pi}{n_x-1} \right]; \quad i = 1, 2, \dots, N_x \quad (8)$$

$$y_j = \frac{1}{2} \left[1 - \cos \frac{(j-1)\pi}{n_y-1} \right]; \quad j = 1, 2, \dots, N_y \quad (9)$$

Eğri Kirişin Hareket Denklemleri

Eğri kirişin geometrik özellikleri Şekil 2.a'da verilmiştir. Kirişin uzunluğu boyunca olan eksen, düşey eksen ve radyal eksen burada sırasıyla x, z ve Y sembolleri ile ifade edilmektedir. Eğri kirişin yer değiştirme bileşenleri β ve w ile temsil edilmektedir. β , x ekseninde yaptığı açı ve w, z eksenine göre yapmış olduğu yer değiştirmedir. Kirişin başlangıcı ile bitimi arasındaki eğrilik açısı ise θ' dir. Kirişin eğrilik yarıçapı ise R ile ifade edilmektedir. Hareket denklemleri çıkarılırken çalışma kapsamında ele alınan eğri kirişin kalınlığının boyuna oranla oldukça küçük olması sebebiyle eğilme esnasında meydana gelen dönmeden kaynaklı ortaya çıkan atalet kuvvetleri, kısaca dönme ataleti ve kayma şekil değiştirmesi ihmal edilmiştir.



Şekil 2. Eğri kiriş: a) geometrik özellikler b) eğri kirişe etkiyen moment ve kuvvetler (Tan ve Shore, 1968)

Eğri kiriş üzerinden $d\theta$ kadarlık bir açı ile dx uzunluğunda bir parça alınarak, bu eğri kiriş parçası üzerinde etki eden moment ve kuvvetler Şekil 2.b'de gösterilmiştir. Burada, V kesme kuvvetini, M eğilme momentini, T burulma momentini, $p(\theta, t)$ kirişe tesir eden dinamik kuvvet yoğunluğunu ve ayrıca kirişin yer değiştirme ve atalet etkileri $m\ddot{w}$ ve $ma^2\ddot{\beta}$ ifadeleri ile gösterilmektedir. Eğri kirişin yay uzunluğunu ifade eden ds , $Rd\theta$ olarak tanımlanmıştır.

Şekil 2 de gösterilen eğri kirişin x, z ve Y eksenleri boyunca denge denklemleri aşağıdaki gibi yazılabilmektedir (Tan ve Shore, 1968).

x ekseninde kuvvet dengesinden aşağıdaki ifade yazılabilir.

$$\frac{1}{R} \frac{\partial T}{\partial \theta} - \frac{M}{R} - ma^2 \frac{\partial^2 \beta}{\partial t^2} = 0 \quad (10)$$

z ekseninde kuvvet dengesinden aşağıda verilen eşitlik yazılabilir.

$$p - \frac{1}{R} \frac{\partial V}{\partial \theta} - m \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (11)$$

Y eksenini boyunca kuvvet dengesinden, aşağıda verilen denklem yazılabilir.

$$\frac{1}{R} \frac{\partial M}{\partial \theta} + \frac{T}{R} - V = 0 \quad (12)$$

Eşitlik 12. nin θ 'ya göre bir kez türevi alınıp ve eşitliğin her iki tarafı $-1/R$ ile çarpılırsa Eşitlik 13. elde edilir.

$$-\frac{1}{R^2} \frac{\partial^2 M}{\partial \theta^2} - \frac{1}{R^2} \frac{\partial T}{\partial \theta} + \frac{1}{R} \frac{\partial V}{\partial \theta} = 0 \quad (13)$$

Eşitlik 13. ile Eşitlik 11. toplanıp, gerekli düzenlemeler yapıldığı takdirde Eşitlik 14 elde edilir.

$$\frac{1}{R^2} \frac{\partial^2 M}{\partial \theta^2} + \frac{1}{R^2} \frac{\partial T}{\partial \theta} + m \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = p \quad (14)$$

Eğri bir kirişin elastik eğri denklemlerinde, EI eğilme direngenliğini, G kayma modülünü, KT Saint-Venant burulma sabitini, E elastisite modülünü ve I_w ise çarpılma sabitini göstermektedir. Eğilme momenti ve burulma momenti ise aşağıdaki şekilde tanımlanabilir (Tan ve Shore, 1968; Kang ve ark., 1996).

$$\frac{M}{EI} = \frac{\beta}{R} - \frac{1}{R^2} \frac{\partial^2 w}{\partial \theta^2} \quad (15)$$

$$\frac{T}{GK_T} = \left(\frac{1}{R} \frac{\partial \beta}{\partial \theta} + \frac{1}{R^2} \frac{\partial w}{\partial \theta} \right) - \frac{EI_w}{GK_T} \left(\frac{1}{R^3} \frac{\partial^3 \beta}{\partial \theta^3} + \frac{1}{R^4} \frac{\partial^3 w}{\partial \theta^3} \right) \quad (16)$$

Eşitlik 15. Ve Eşitlik 16., Eşitlik 10. da yerine yazılırsa Eşitlik 17. elde edilir.

$$\frac{1}{R} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\frac{GK_T}{R} \frac{\partial \beta}{\partial \theta} + \frac{GK_T}{R^2} \frac{\partial w}{\partial \theta} - \frac{EI}{R^3} \frac{\partial^3 \beta}{\partial \theta^3} - \frac{EI_w}{R^4} \frac{\partial^3 w}{\partial \theta^3} \right) - \left[\frac{1}{R} \left(\frac{EI\beta}{R} - \frac{EI}{R^2} \frac{\partial^2 w}{\partial \theta^2} \right) \right] + ma^2 \frac{\partial^2 \beta}{\partial t^2} = 0 \quad (17)$$

Eşitlik 17. de gerekli düzenlemeler yapıldığı takdirde Eşitlik 18. elde edilir.

$$\frac{EI_w}{R^5} \frac{\partial^4 w}{\partial \theta^4} - \left(\frac{GK_T + EI}{R^3} \right) \frac{\partial^2 w}{\partial \theta^2} - \frac{EI_w}{R^4} \frac{\partial^4 \beta}{\partial \theta^4} - \frac{GK_T}{R^2} \frac{\partial^2 \beta}{\partial \theta^2} + \frac{EI}{R^2} \beta - ma^2 \frac{\partial^2 \beta}{\partial t^2} = 0 \quad (18)$$

Eşitlik 15. ve Eşitlik 16., Eşitlik 14. de yerine yazılırsa Eşitlik 19 elde edilir.

$$\frac{1}{R} \frac{\partial^2}{\partial \theta^2} \left(\frac{EI\beta}{R} - \frac{EI}{R^2} \frac{\partial^2 w}{\partial \theta^2} \right) + \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\frac{GK_T}{R} \frac{\partial \beta}{\partial \theta} + \frac{GK_T}{R^2} \frac{\partial w}{\partial \theta} - \frac{EI_w}{R^3} \frac{\partial^3 \beta}{\partial \theta^3} - \frac{EI_w}{R^4} \frac{\partial^3 w}{\partial \theta^3} \right) + m \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = p \quad (19)$$

19 nolu denklemde gerekli düzenlemeler yapılırsa;

$$\left(EI + \frac{EI_w}{R^2} \right) \frac{1}{R^4} \frac{\partial^4 w}{\partial \theta^4} - \frac{GK_T}{R^4} \frac{\partial^2 w}{\partial \theta^2} + \frac{EI_w}{R^5} \frac{\partial^4 \beta}{\partial \theta^4} - \left(\frac{EI + GK_T}{R^3} \right) \frac{\partial^2 \beta}{\partial \theta^2} + m \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (20)$$

eşitliği elde edilir.

Eşitlik 20. deki, $w(z,t)$ ve $\beta(z,t)$ değerleri aşağıda verildiği gibi harmonik fonksiyon formunda tanımlanıp daha sonra bu Eşitlik 20. de yerine yazılırsa;

$$w(z, t) = W(\theta) \sin(\omega t) \quad (21)$$

$$\beta(z, t) = \Phi(\theta) \sin(\omega t) \quad (22)$$

$$\left(EI + \frac{EI_w}{R^2} \right) \frac{1}{R^4} \frac{\partial^4 W}{\partial \theta^4} - \frac{GK_T}{R^4} \frac{\partial^2 W}{\partial \theta^2} + \frac{EI_w}{R^5} \frac{\partial^4 \Phi}{\partial \theta^4} - \left(\frac{EI + GK_T}{R^3} \right) \frac{\partial^2 \Phi}{\partial \theta^2} - m\omega^2 \frac{\partial^2 W}{\partial t^2} = 0 \quad (23)$$

eşitlikleri elde edilir.

Eşitlik 21. ve Eşitlik 22., Eşitlik 18. de yerine yazılır ve p kuvveti ihmal edilirse;

$$\frac{EI_w}{R^5} \frac{\partial^4 W}{\partial \theta^4} - \left(\frac{GK_T + EI}{R^3} \right) \frac{\partial^2 W}{\partial \theta^2} - \frac{EI_w}{R^4} \frac{\partial^4 \Phi}{\partial \theta^4} - \frac{GK_T}{R^2} \frac{\partial^2 \Phi}{\partial \theta^2} + \frac{EI}{R^2} \Phi - ma^2 \omega^2 \frac{\partial^2 \Phi}{\partial t^2} = 0 \quad (24)$$

eşitliği elde edilir.

Eşitlik 23. ve Eşitlik 24. ifadelerinin boyutsuz hale getirilmesi için aşağıdaki tanımlamalar yapılabilir (Kang ve ark., 1996).

$$X = \frac{\theta}{\theta_0}, \quad \xi = \frac{r}{R}, \quad \tilde{D} = \frac{EI_w}{EIR^2}, \quad \tilde{C} = \frac{GK_T}{EI} \quad \bar{\omega} = \left[\frac{m(R\theta_0)^4}{\pi^4 EI} \right]^{\frac{1}{2}} \omega \quad (25)$$

Eşitlik 25. de belirtilen boyutsuz parametreler, Eşitlik 23. ve Eşitlik 24. denklemlerinde yerine yazılır ve gerekli düzenlemeler yapılırsa;

$$\frac{1}{\pi^4 R \xi^2} \tilde{D} \frac{\partial^4 W}{\partial \theta_0^2} - \frac{\theta_0^2}{\pi^4 R \xi^2} (1 + \tilde{C}) \frac{\partial^2 W}{\partial \theta_0^2} + \frac{1}{\pi^4 \xi^2} \tilde{D} \frac{\partial^4 \Phi}{\partial \theta_0^4} - \frac{\theta_0^2}{\pi^4 \xi^2} \tilde{C} \frac{\partial^2 \Phi}{\partial \theta_0^2} + \frac{\theta_0^4}{\pi^4 \xi^2} \Phi - \bar{\omega}^2 \Phi = 0 \quad (26)$$

$$\frac{1}{\pi^4} (1 + \tilde{D}) \frac{\partial^4 W}{\partial \theta_0^2} - \frac{\theta_0^2}{\pi^4} \tilde{C} \frac{\partial^2 W}{\partial \theta_0^2} + \frac{R}{\pi^4} \tilde{D} \frac{\partial^4 \Phi}{\partial \theta_0^4} - \frac{R\theta_0^2}{\pi^4} (1 + \tilde{C}) \frac{\partial^2 \Phi}{\partial \theta_0^2} - \bar{\omega}^2 W = 0 \quad (27)$$

eşitlikleri elde edilir.

Eğri kirişe ait basir mesnet sınır şartı ise aşağıda verildiği gibi yazılabilir.

$$\text{Basit mesnet: } X=0 \text{ veya } X=1' \text{ de; } W = \Phi = W'' = \Phi'' = 0 \quad (28)$$

Eğri kirişlerin boyutsuz hareket denklemlerini temsil eden Eşitlik 26. ve Eşitlik 27. ifadelerine DQM uygulanırsa;

$$\frac{1}{\pi^4 R \xi^2} \tilde{D} \sum_{j=1}^N D_{ij} W_j - \frac{\theta_0^2}{\pi^4 R \xi^2} (1 + \tilde{C}) \sum_{j=1}^N B_{ij} W_j + \frac{1}{\pi^4 \xi^2} \tilde{D} \sum_{j=1}^N D_{ij} \Phi_j - \frac{\theta_0^2}{\pi^4 \xi^2} \tilde{C} \sum_{j=1}^N B_{ij} \Phi_j + \frac{\theta_0^4}{\pi^4 \xi^2} \Phi_i - \bar{\omega}^2 \Phi_i = 0 \quad (29)$$

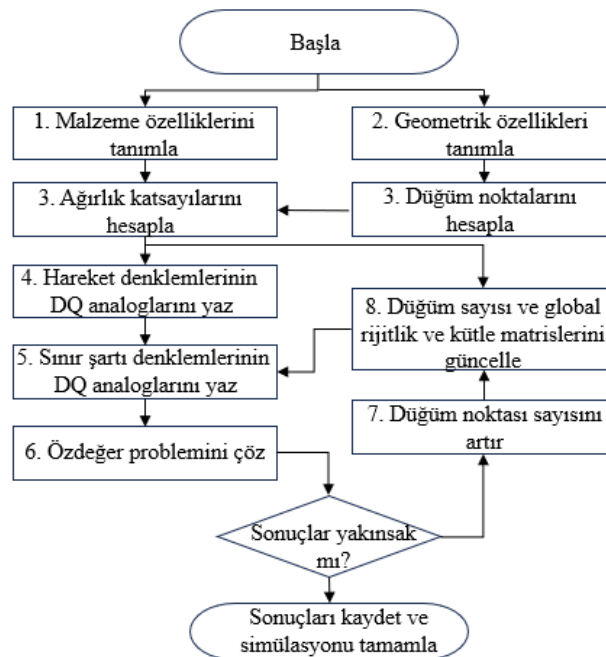
$$\frac{1}{\pi^4} (1 + \tilde{D}) \sum_{j=1}^N D_{ij} W_j - \frac{\theta_0^2}{\pi^4} \tilde{C} \sum_{j=1}^N B_{ij} W_j + \frac{R}{\pi^4} \tilde{D} \sum_{j=1}^N D_{ij} \Phi_j - \frac{R\theta_0^2}{\pi^4} (1 + \tilde{C}) \sum_{j=1}^N B_{ij} \Phi_j - \bar{\omega}^2 W_i = 0 \quad (30)$$

eşitlikleri elde edilir.

Eşitlik 28. de verilen basit mesnet sınır şartı ifadelerine DQM uygulanırsa aşağıda verilen eşitlikler elde edilir.

$$X=0' \text{ da } W_1 = \Phi_1 = 0; \quad X=0+\delta' \text{ da } \sum_{j=1}^N B_{2j} W_j = \sum_{j=1}^N B_{2j} \Phi_j = 0 \quad (31)$$

$$X=1-\delta' \text{ da } \sum_{j=1}^N B_{(N-1)j} W_j = \sum_{j=1}^N B_{(N-1)j} \Phi_j = 0; \quad X=1' \text{ de } W_N = \Phi_N = 0 \quad (32)$$



Şekil 3. DQM akış diyagramı

BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada, SK eğri kirişin matematiksel modeli DQM'ye dayalı olarak MATLAB programı (Şekil 3) vasıtasıyla hazırlanmıştır. Sunulan DQM'nin eğri kirişlerin serbest titreşim analizindeki doğruluğunu kontrol etmek için sayısal örnekler sunulmuş ve sonuçlar çeşitli kiriş teorilerinin ve farklı çözüm metotlarının sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

Literatür Sonuçları ile Modelin Kıyaslanması:

Sunulan DQM'nin formülasyonunun geçerliliği, izotropik ve kompozit malzemelere sahip eğri kirişler için bazı doğal frekanslar hesaplanarak kanıtlanmıştır. Çizelge 1, çeşitli eğrilik açıları ve yarıçapları için izotropik malzemeli, her iki ucu basit mesnetli eğri kirişlerin doğal frekans değerlerinin karşılaştırmasını göstermektedir. Mevcut DQM kullanılarak elde edilen sayısal sonuçlar, Culver (1967), Shore ve Chaudhuri (1972), Yoo ve Fehrenbach (1981) ve Yoon ve ark. (2006) tarafından sunulan sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Ele alınan eğri kirişin geometrik ve malzeme özellikleri şu şekildedir: $A=9.297 \times 10^{-3} \text{ m}^2$, $I_x=1.137 \times 10^{-4} \text{ m}^4$, $I_y=3.871 \times 10^{-5} \text{ m}^4$, $K_T=1.471 \times 10^{-5} \text{ m}^4$, $I=5.559 \times 10^{-7} \text{ m}^6$, $E=200 \text{ GPa}$, $G=77.2 \text{ GPa}$, $\rho=7855 \text{ kg/m}^3$.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi, DQM'den elde edilen sonuçlar ile diğer araştırmalardan elde edilen sonuçlar arasında iyi bir uyum bulunmaktadır.

Çizelge 1. Çeşitli eğrilik açıları ve yarıçapları için izotropik malzemeli, her iki ucu basit mesnetli eğri kirişlerin doğal frekans değerlerinin karşılaştırması

| Eğrilik açısı (derece) | Eğrilik yarıçapı (m) | Bu çalışma (N=13) | | | Shore ve Chaudhuri (1972) | | Yoo ve Fehrenbach (1981) | | Yoon ve ark. (2006) | |
|------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|----------|---------------------------|----------|--------------------------|----------|---------------------|----------|
| | | ω_1 (rad/s) | ω_1 (rad/s) | Fark (%) | ω_1 (rad/s) | Fark (%) | ω_1 (rad/s) | Fark (%) | ω_1 (rad/s) | Fark (%) |
| 10 | 29.350 | 202.7 | 202.5 | 0.1 | 203.3 | 0.3 | 204.7 | 1.0 | 201.3 | 0.7 |
| 30 | 9.784 | 162.7 | 162.2 | 0.3 | 164.7 | 1.2 | 165.8 | 1.9 | 160.9 | 1.1 |
| 50 | 5.870 | 121.3 | 120.9 | 0.3 | 122.8 | 1.2 | 121.3 | 0.0 | 120.1 | 1.0 |
| 70 | 4.194 | 89.1 | 88.9 | 0.2 | 90.0 | 1.0 | 89.3 | 0.2 | 88.3 | 0.9 |
| 90 | 3.261 | 64.8 | 64.6 | 0.3 | 65.2 | 0.6 | 64.0 | 1.2 | 64.1 | 1.1 |

Parametrik Çalışma

DQM ile elde edilen sonuçlar literatürdeki farklı çözüm metotlarından elde edilen sonuçlarla karşılaştırılıp modelin doğruluğu test edildikten sonra SK eğri kirişin malzeme özelliği, MB yoğunluğu, MB hacim oranı ve geometrik özelliği gibi çeşitli tasarım parametrelerinin doğal frekanslar üzerindeki etkileri incelenmiştir. Eğri kiriş, iki kenarı basit mesnetli sınır koşulu altında, çeşitli MB hacim oranı ve yoğunluklarına sahip SK ve matris reçinesinden oluşan kompozit bir yapı olarak modellenmiştir. Çalışmada ele alınan SK malzemelerin elastik özellikleri, Çizelge 2 ve Çizelge 3'teki veriler kullanılarak Bardella ve Genna (2001)'nin çalışmasındaki karışım oranı ifadeleri kullanılarak hesaplanmıştır ve bu özellikler Çizelge 4'te verildiği gibidir. Çalışma kapsamında ele alınan SK eğri kirişin geometrik özellikleri şu şekildedir: $A=9.297 \times 10^{-3} \text{ m}^2$, $I_x=1.137 \times 10^{-4} \text{ m}^4$, $I_y=3.871 \times 10^{-5} \text{ m}^4$, $K_T=1.471 \times 10^{-5} \text{ m}^4$, $I=5.559 \times 10^{-7} \text{ m}^6$.

Çizelge 2. SK'lerde kullanılan MB'lerin özellikleri (Porfiri ve Gupta, 2009)

| MB türü | Yoğunluk (kg/m^3) | Ortalama çap (μm) | Duvar kalınlığı (μm) | Yarıçap oranı η (r_i / r_o) |
|-----------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| S ₂₂ | 220 | 35 | 0.521 | 0.970 |
| K ₃₇ | 370 | 45 | 1.024 | 0.948 |
| K ₄₆ | 460 | 40 | 1.289 | 0.936 |

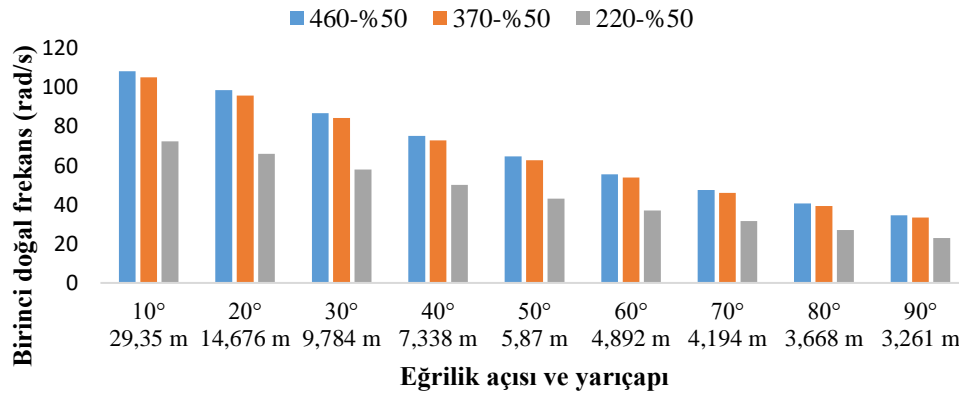
r_i : MB'nin iç yarıçapı/ r_o : MB'nin dış yarıçapı

Çizelge 3. SK’de kullanılan malzemelerin yoğunluğu ve elastik sabitleri (Porfiri ve Gupta, 2009)

| Malzeme | Yoğunluk (kg/m ³) | Poisson oranı (ν_s) | Elastisite modülü (GPa) |
|---------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Epoksi reçine | 1160 | 0.35 | 2.752 |
| Cam MB | 2540 | 0.21 | 60 |

Çizelge 4. SK’de kullanılan malzemelerin yoğunluğu ve elastik sabitleri

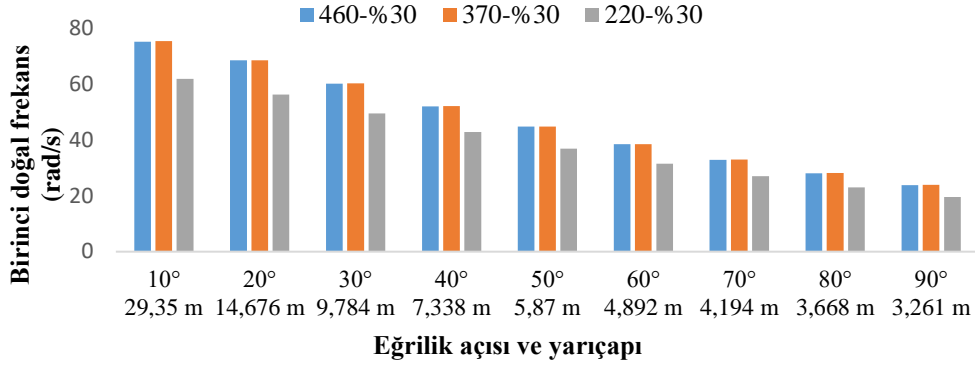
| MB yoğunluğu (ρ_m kg/m ³) | 460 | | 370 | | 220 | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| MB hacim oranı (V_m) | %50 | %30 | %50 | %30 | %50 | %30 |
| E_s (GPa) | 4.94 | 3.06 | 4.69 | 2.99 | 1.96 | 1.83 |
| ν_s (Poisson oranı) | 0.295 | 0.319 | 0.300 | 0.321 | 0.325 | 0.336 |
| G_s (GPa) | 1.91 | 1.16 | 1.80 | 1.13 | 0.74 | 0.69 |
| Teorik yoğunluk (kg/m ³) | 680 | 874 | 684 | 852 | 601 | 772 |

**Şekil 4.** MB hacim oranı %50 olan SK’ler için birinci doğal frekanslar

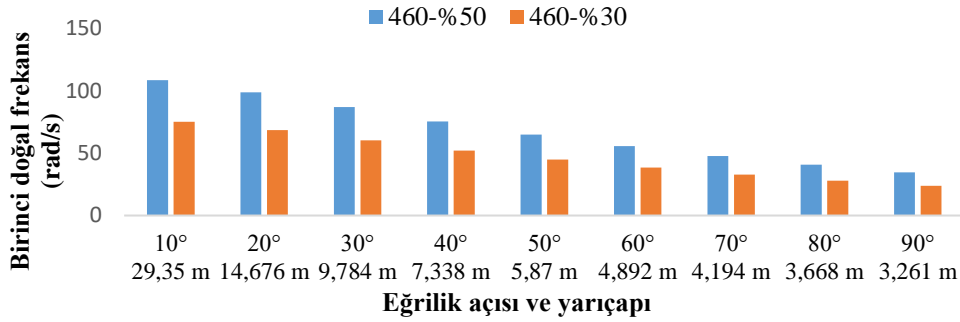
Çeşitli eğrilik açısına, yarıçapına ve %50 MB hacim oranına sahip SK eğri kirişlerin, MB yoğunluklarındaki değişimin birinci doğal frekanslar üzerindeki etkisi incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4’te gösterilmiştir. Geometrik olarak herhangi bir eğrilik açısına ve yarıçapına sahip eğri kirişte, MB yoğunluğu azaldıkça (460 kg/m³’ten 220 kg/m³’e doğru) birinci doğal frekans değerlerinin azaldığı görülmektedir. Bu durumun nedeni, yapı içerisinde daha düşük yoğunluğa sahip MB kullanıldıkça yapının rijitliğinde azalmanın meydana gelmesidir. Ayrıca Şekil 4’ten, eğrilik açısı değerleri artıp (10°’den 90°’ye doğru) bununla beraber eğrilik yarıçapı değerleri azaldıkça (29,35 m’den 3,261 m’ye doğru) SK eğri kirişlerin doğal frekans değerlerinde azalma olduğu tespit edilmektedir. Bunun sebebi ise, eğri kirişin eğrilik açısı arttıkça yapının rijitliğinin azalmasıdır.

Şekil 5’te, çeşitli eğrilik açısına, yarıçapına ve %30 MB hacim oranına sahip SK eğri kirişlerin, MB yoğunluklarındaki değişimin birinci doğal frekanslar üzerindeki etkisini göstermektedir. Yapının geometrik özellikleri olan eğrilik açısı ve yarıçapı değerlerinin tamamında, yapı içerisinde kullanılan ve %30 hacim oranına sahip MB’lerden yoğunlukça daha büyük olanı tercih edilirse (örneğin 220 kg/m³ yerine 460 kg/m³) yapının doğal frekansı daha yüksek olarak elde edilmektedir. Ayrıca Şekil 5 incelendiğinde, eğrilik açısı arttıkça yapının doğal frekansları azalmaktadır.

Şekil 6’da MB yoğunluğu 460 kg/m³ olan ve çeşitli eğrilik açısı ve yarıçapına sahip SK köpük eğri kirişlerin, MB hacim oranlarındaki değişime karşılık birinci doğal frekanslarındaki değişim görülmektedir. Yapının eğrilik açısı arttıkça, rijitliğinin azalması sebebiyle SK eğri kirişlerin birinci doğal frekansları azalmaktadır. Ayrıca, MB yoğunluğu 460 kg/m³ değerinde sabit olan eğri kirişlerde, MB hacim oranı %50 olan yapıların birinci doğal frekansı MB hacim oranı %30 olan yapılara göre daha yüksektir. Bu durumun sebebi ise yapı içerisindeki MB hacim oranı daha yüksek olduğu takdirde, yapının yoğunluğunun daha az olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 5. MB hacim oranı %30 olan SK'ler için birinci doğal frekanslar

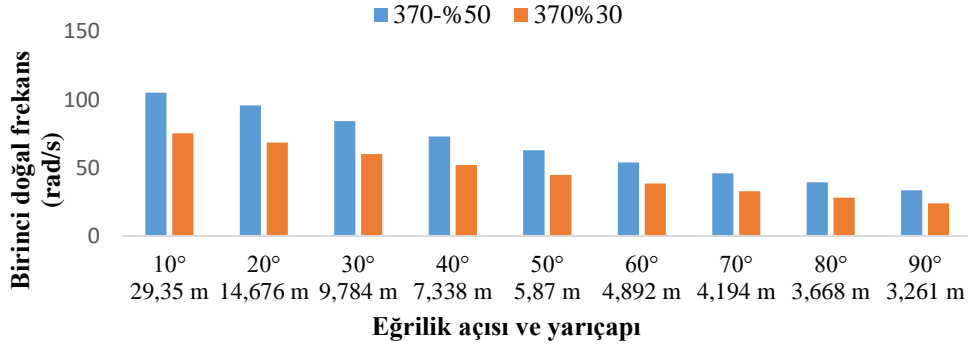
Şekil 6. MB yoğunluğu (ρ_{MB}) 460 kg/m³ olan SK'ler için birinci doğal frekanslar

MB yoğunluğu 370 kg/m³ olan ve çeşitli eğrilik açısı ve yarıçapına sahip SK eğri kirişlerin, MB hacim oranlarındaki değişime karşılık birinci doğal frekanslarındaki değişim Şekil 7'de verilmiştir. Eğrilik açısı ve yarıçapı değeri en yüksek olan SK'lerin birinci doğal frekanslarının, en düşük eğrilik açısına ve yarıçapına sahip olanlarınkine kıyasla daha düşük olduğu Şekil 7'den açıkça görülmektedir. Ayrıca Şekil 7 incelendiğinde, MB yoğunluğu 370 kg/m³ değerinde sabit olan eğri kirişlerde, MB hacim oranı %50'den %30 değerine doğru azaldığında birinci doğal frekans değerlerinin de azaldığı sonucuna varılmaktadır. Bu durumun sebebi ise, SK eğri kirişin MB yoğunluğu sabit tutulup MB hacim oranı azaldığı takdirde, yapının rijitliğinde azalma meydana gelmesi ve yoğunluğunda ise artış meydana gelmesidir.

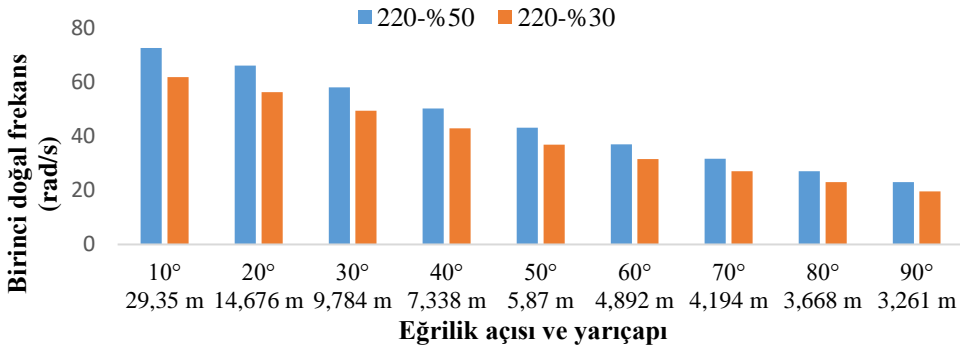
Çeşitli eğrilik açısına, yarıçapına sahip ve MB yoğunluğu 220 kg/m³ olan SK eğri kirişlerin, MB hacim oranlarındaki değişime karşılık birinci doğal frekanslarındaki değişim Şekil 8'de görülmektedir. Eğrilik açısı ve yarıçapı arttıkça, yapının rijitliğinin azalması sebebiyle SK eğri kirişlerin birinci doğal frekansları azalmaktadır. Ayrıca, MB yoğunluğu 220 kg/m³ değerinde sabit olan eğri kirişlerde, MB hacim oranı %50 olan yapıların birinci doğal frekansı MB hacim oranı %30 olan yapılara göre daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Bu durumun sebebi ise yapı içerisindeki MB hacim oranı arttıkça yapının yoğunluğunun azalmasıdır.

Şekil 9'da, 460 kg/m³ MB yoğunluğuna ve %50 MB hacim oranına sahip SK eğri kirişin, eğrilik açısı ve yarıçaplarındaki değişime karşılık ilk üç doğal frekanslarındaki değişim görülmektedir. Şekil 9 incelendiği takdirde, yapının eğrilik açısı değerleri arttıkça birinci doğal frekansların azaldığı sonucuna varılmaktadır. İkinci doğal frekans değerlerinin ise, eğri kirişin eğrilik açısı değerleri arttıkça genellikle azaldığı tespit edilmektedir. Üçüncü doğal frekans değerlerine bakıldığında ise, eğrilik açısı değerleri arttıkça eğri kirişin üçüncü doğal frekans değerlerinin genellikle arttığı görülmektedir.

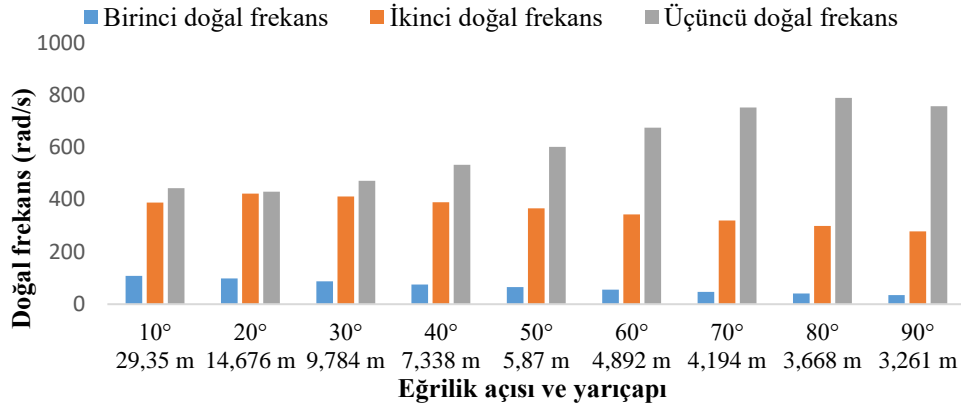
Şekil 10'da, eğrilik açısı ve yarıçapı sırasıyla 10° ve 29,35 m olan SK eğri kirişlerin MB hacim oranları ve yoğunluklarındaki değişime karşılık ilk üç doğal frekanslarındaki değişim verilmiştir.



Şekil 7. MB yoğunluğu (ρ_{MB}) 370 kg/m³ olan SK'ler için birinci doğal frekanslar



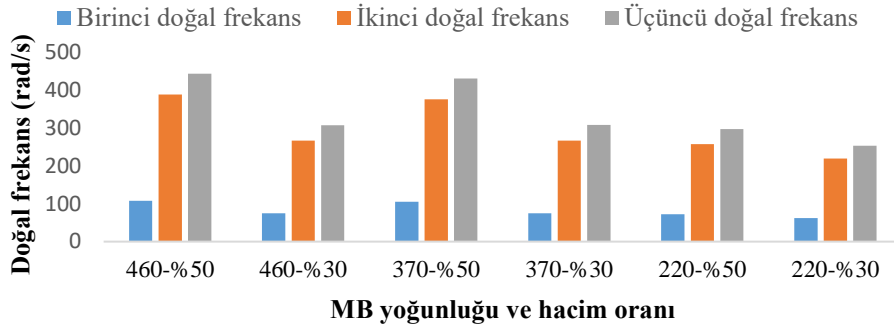
Şekil 8. MB yoğunluğu (ρ_{MB}) 220 kg/m³ olan SK'ler için birinci doğal frekanslar



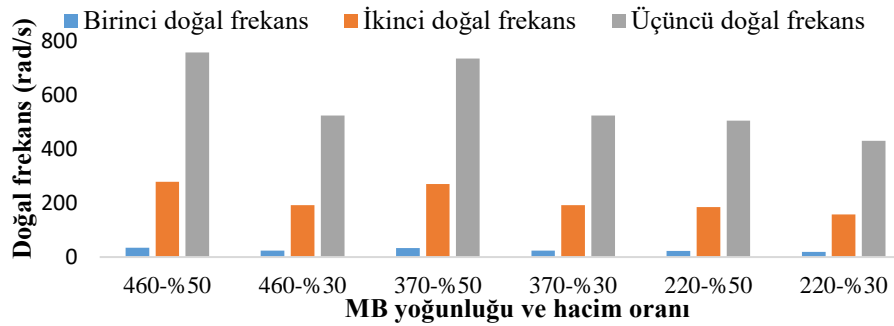
Şekil 9. MB yoğunluğu (ρ_{MB}) 460 kg/m³ ve MB hacim oranı %50 olan SK eğri kirişlerin ilk üç doğal frekansları

Şekil 10 incelendiğinde, örneğin 460 kg/m³ MB yoğunluğuna ve %50 MB hacim oranına sahip eğri kirişin birinci, ikinci ve üçüncü doğal frekans değerleri sırasıyla 108,3 rad/s, 388,6 rad/s ve 443,6 rad/s olarak elde edilmiştir. MB hacim oranı %50 olan SK eğri kirişlerin, MB yoğunluğu sırasıyla 460, 370 ve 220 kg/m³ değerlerine doğru azaldıkça üç doğal frekans değerlerinin de azaldığı gözlemlenmektedir. Bu durum yapının rijitliğindeki ve yoğunluğundaki değişim ile yakından ilişkilidir. MB hacim oranı sabit iken yapı içerisindeki MB yoğunluğu azaldıkça SK eğri kirişin rijitliği azalmakta ve aynı zamanda yoğunluğu artmaktadır ve bunun neticesinde de yapının doğal frekansları azalmaktadır. Şekil 10'dan, MB hacim oranı %30 olan SK eğri kirişler için MB yoğunluğu sırasıyla 460, 370 ve 220 kg/m³ değerlerine doğru azalması durumunda da ilk üç doğal frekans değerleri için benzer bir eğilimin olduğu göze çarpmaktadır. Bir diğer önemli sonuç ise MB yoğunlukları 460, 370 ve 220 kg/m³ değerlerinde ayrı ayrı sabit iken, yapının içerisindeki MB hacim oranları sırasıyla %50 ve %30 değerlerine doğru azaltıldığı takdirde ilk üç doğal frekans değerlerinde azalma olduğunun

belirlenmesidir. Bu durum, MB yoğunluğu sabit iken yapı içerisindeki MB hacim oranı azaldığı zaman yapının yoğunluğunda artış meydana gelmesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 10. Eğrilik açısı 10° ve eğrilik yarıçapı 29,35 m olan SK eğri kirişlerin ilk üç doğal frekansları



Şekil 11. Eğrilik açısı 90° ve eğrilik yarıçapı 3,261 m olan SK eğri kirişlerin ilk üç doğal frekansları

Eğrilik açısı ve yarıçapı sırasıyla 90° ve 3,261 m olan SK eğri kirişlerin MB hacim oranları ve yoğunluklarındaki değişime karşılık ilk üç doğal frekanslarındaki değişim Şekil 11’de verilmiştir. Şekil 11 incelendiği takdirde, MB hacim oranları ve yoğunluklarındaki değişimin doğal frekanslar üzerindeki etkilerinin Şekil 10’da verilen eğilimlere benzer paralel eğilimler sergilediği görülmektedir. MB yoğunluğu ve hacim oranının doğal frekanslara etkileri hususunda elde edilen bulgular ile literatürdeki kiriş ve plaka yapılarının incelendiği çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir (Maraş ve ark., 2019; Şansveren ve Yaman, 2019).

SONUÇLAR

Bu çalışmada, SK eğri kirişin serbest titreşim davranışı, klasik kiriş teorisi ve DQM kullanılarak kirişin yönetici denklem sistemi nümerik olarak çözülmek suretiyle incelenmiştir. Epoksi/cam MB bazlı SK eğri kirişlerin MB hacim oranlarının, MB yoğunluklarının, eğrilik açısı ve eğrilik yarıçapı gibi geometrik parametrelerinin doğal frekanslar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu araştırma, tasarımcıların uygulama ve yükleme koşullarına göre uygun malzeme ve geometrik özelliklere sahip SK eğri kiriş konfigürasyonlarını seçmelerine yardımcı olur ve bu da maliyet tasarrufu sağlar. İncelenen yapıların titreşim analizinden elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

- Eğrilik açısı ve eğrilik yarıçapı değerleri arttıkça yapı içerisindeki MB hacim oranı ve MB yoğunluğu fark etmeksizin yapının doğal frekansları azalmaktadır.
- Yapı içerisindeki MB hacim oranı %50 veya %30 değerinde sabit tutulup MB yoğunluğu sırasıyla 220 kg/m³, 370 kg/m³ ve 460 kg/m³ olarak arttırıldığında, yapının doğal frekansları artmaktadır.
- Yapı içerisindeki MB yoğunluğu 220 kg/m³, 370 kg/m³ veya 460 kg/m³ olarak sabit tutulup MB hacim oranı %30 değerinden %50 değerine arttırıldığı takdirde (örneğin 220-%30 konfigürasyonundan 220-%50 konfigürasyonuna doğru), yapının doğal frekanslarında artış görülmektedir.

• SK eğri kiriş konfigürasyonları içerisinde en yüksek doğal frekansa sahip olan yapılar, eğri kirişin eğrilik açısı, yarıçapı, MB hacim oranı ve MB yoğunluğu gibi geometrik ve malzeme özelliklerindeki değişime göre farklılık göstermektedir.

Çıkar Çatışması

Yazar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Anirudh, S., Jayalakshmi, C., Anand, A., Kandasubramanian, B., ve Ismail, S. O. (2022). Epoxy/hollow glass microsphere syntactic foams for structural and functional application-A review. *European Polymer Journal*, 171, 111163.
- Bardella, L., ve Genna, F. (2001). On the elastic behavior of syntactic foams. *International Journal of Solids and Structures*, 38(40-41), 7235-7260.
- Bellman, R., ve Casti, J. (1971). Differential quadrature and long-term integration. *Journal of mathematical analysis and Applications*, 34(2), 235-238.
- Culver, C. G. (1967). Natural frequencies of horizontally curved beams. *Journal of the Structural Division*, 93(2), 189-204.
- Gupta, N., Gupta, S. K., ve Mueller, B. J. (2008). Analysis of a functionally graded particulate composite under flexural loading conditions. *Materials Science and Engineering: A*, 485(1-2), 439-447.
- Gupta, N., Ye, R., ve Porfiri, M. (2010). Comparison of tensile and compressive characteristics of vinyl ester/glass microballoon syntactic foams. *Composites Part B: Engineering*, 41(3), 236-245.
- Hajianmaleki, M., ve Qatu, M. S. (2012). Static and vibration analyses of thick, generally laminated deep curved beams with different boundary conditions. *Composites Part B: Engineering*, 43(4), 1767-1775.
- Kadioglu, F., ve Iyidogan, C. (2009). Free vibration of laminated composite curved beams using mixed finite element formulation. *Science and Engineering of Composite Materials*, 16(4), 247-258.
- Kang, K., Bert, C. W., ve Striz, A. G. (1996). Vibration analysis of horizontally curved beams with warping using DQM. *Journal of Structural Engineering*, 122(6), 657-662.
- Karamanli, A., Wattanasakulpong, N., Lezgy-Nazargah, M., ve Vo, T. P. (2023). Bending, buckling and free vibration behaviours of 2D functionally graded curved beams. *Structures*, 55, 778-798.
- Liang, M., Lu, F., ve Li, X. (2017). Dynamic responses and failure of short glass-fiber reinforced syntactic foams. *International Journal of Applied Mechanics*, 9(01), 1750002.
- Maraş, S., Yaman, M., ve Şansveren, M. F. (2019). Dynamic Analysis of Laminated Syntactic Foam Beams. *3rd International Conference on Advanced Engineering Technologies*.
- Moghaddasi, M., ve Kiani, Y. (2022). Free and forced vibrations of graphene platelets reinforced composite laminated arches subjected to moving load. *Meccanica*, 57(5), 1105-1124.
- Osman, M. Y., ve Suleiman, O. M. E. (2017). Free vibration analysis of laminated composite beams using finite element method'. *International Journal of Engineering Research and Advanced Technology (IJERAT)*, 3(2), 5-22.
- Porfiri, M., ve Gupta, N. (2009). Effect of volume fraction and wall thickness on the elastic properties of hollow particle filled composites. *Composites Part B: Engineering*, 40(2), 166-173.
- Poveda, R. L., Achar, S., ve Gupta, N. (2014). Viscoelastic properties of carbon nanofiber reinforced multiscale syntactic foam. *Composites Part B: Engineering*, 58, 208-216.
- Qatu, M. (1992). In-plane vibration of slightly curved laminated composite beams. *Journal of Sound and Vibration*, 159(2), 327-338.

- Sayyad, A. S., ve Avhad, P. V. (2022). A new higher order shear and normal deformation theory for the free vibration analysis of sandwich curved beams. *Composite Structures*, 280, 114948.
- Shore, S., ve Chaudhuri, S. (1972). Free vibration of horizontally curved beams. *Journal of the Structural Division*, 98(3), 793-796.
- Siddiqi, Z. A. (1995). Analysis of interacting subdomains in structural mechanics problems by the differential quadrature method: The University of Oklahoma.
- Skoptsov, K. A., Sheshenin, S. V., Galatenko, V. V., Malakho, A. P., Shornikova, O. N., Avdeev, V. V., ve Sadovnichy, V. A. (2016). Particle simulation for predicting effective properties of short fiber reinforced composites. *International Journal of Applied Mechanics*, 8(02), 1650016.
- Srinivasa, C. V., Suresh, Y. J., ve Kumar, W. P. (2014). Experimental and finite element studies on free vibration of skew plates. *International Journal of Advanced Structural Engineering (IJASE)*, 6(1), 48.
- Şansveren, M. F., ve Yaman, M. (2019). The effect of carbon nanofiber on the dynamic and mechanical properties of epoxy/glass microballoon syntactic foam. *Advanced Composite Materials*, 28(6), 561-575.
- Tan, C. P., ve Shore, S. (1968). Dynamic response of a horizontally curved bridge. *Journal of the Structural Division*, 94(3), 761-781.
- Yoo, C. H., ve Fehrenbach, J. P. (1981). Natural frequencies of curved girders. *Journal of the Engineering Mechanics Division*, 107(2), 339-354.
- Yoon, K.-Y., Park, N.-H., Choi, Y.-J., ve Kang, Y.-J. (2006). Natural frequencies of thin-walled curved beams. *Finite elements in analysis and design*, 42(13), 1176-1186.

Organic Rankine Cycle (ORC) Systems: A fundamental Overview of Small-scale Applications Fuelled by Low-grade Heat Sources

Celal TİLTAY

Highlights:

- Operational principles, fields of applications, and current market adaptability of the ORC technology are analysed
- Selection and design criteria for the components of small-scale ORC systems are thoroughly evaluated
- ORC performance enhancement methods and other ORC-alternative thermodynamic cycles for low-grade heat sources are highlighted

ABSTRACT:

Environmental issues shift energy production from conventional methods to new and more efficient alternatives. One of these alternatives is the use of organic Rankine cycles (ORC) in low-grade heat sources to generate both heat and power at small scales. Among different technologies available for this purpose, ORC-based systems seem to be the most suitable and promising option due to their simplicity and versatility. Thus, such systems have been investigated intensively. However, current studies often focus on only one aspect of these systems due to the massive research scale in this field. Therefore, this study aims to provide a fundamental and holistic overview to evaluate ORC-based low-heat sourced and small-scale applications from multiple perspectives. As a result, the basic operating principles and application areas of ORCs, selection and design criteria of their working fluids and all other system components, methods of improving their performance, and other thermodynamic cycles that can be ORC alternatives are examined in detail. The results of this study show that ORC applications can enable small-scale combined heat and power generation, while geothermal and solar energy sources have the potential to scale the size of such applications up to kW capacities. The results also showed that dry & isentropic fluids and vane & scroll expanders are the most suitable refrigerant and expander types, respectively, for small-scale ORC applications. Furthermore, the implications of all findings are critically discussed.

Keywords:

- ORC
- Low-grade Heat
- Small-scale ORC
- Combine Heat and Power
- Micro Generation

INTRODUCTION

Due to the increasing level of environmental concerns and high energy consumption in all sectors, there has been a significant interest in generating energy from alternative sources, such as low-grade heat sources (30-150 °C) (Hung et al., 2010). With this regard, one of the most crucial technologies to be employed in such applications is the Organic Rankine Cycle (ORC) (Quoilin et al., 2011), (Peris et al., 2015). In general, an ORC has the same operation principle as the conventional Rankine Cycles (RC) and consists of the same components. However, the working fluid used in an ORC is an organic refrigerant which has a lower boiling temperature than water used in RC) (Quoilin et al., 2010). This distinguishes ORCs from Rankine Cycles and enables the technology to generate energy from many different sources, including low-grade ones, and to reduce the size of energy generation to small-scales (Quoilin et al., 2011).

The adaptation into the different heat sources allows the ORC systems to be implemented into renewable energy sources. In particular, solar, geothermal, and biomass are the suitable candidates whose heat outputs are usually categorised as low-grade (Udeh et al., 2021), (Cioccolanti et al., 2017). In addition, affordable investment and maintenance, less complexity, and good market availability are the other favourable features of the ORC systems that make local and small-scale combined heat and power generation possible (Qiu, 2012). As a result, the ORC systems have been studied in a number of previous work. For example, (Quoilin et al., 2013) have conducted a techno-economic review on the feasible ORC systems and examined the viability of the technology. Some other authors focused on the more detailed technical parameters, such as refrigerant selection. With this regard, (Tchanche et al., 2009) have conducted one of the most comprehensive study on different working fluids for ORC systems and concluded that R134a refrigerant is the most suitable fluid for small-scale applications. Other authors, such as (Saleh et al., 2007), (Babatunde and Sunday, 2018), and (Bao & Zhao, 2013) have also recommended fluids that can be used in ORC systems. In addition, the utilization of the ORC systems in residential applications has gained considerable attention recently. In this concept, (Pereira et al., 2018) have investigated the ORC systems for co-generative applications and revealed the state-of-the-art current challenges in these implementations. Further, performance enhancements in the ORC have been studied extensively. In a leading study, (Shengjun et al., 2011) have studied possible ways of improving the cycle efficiency and shown that subcritical cycles yield the highest thermal and exergy efficiencies. Also, other pioneering studies can be found in (Lemort et al., 2009) for ORC's expander modelling, in (Lecompte et al., 2015) for waste heat recovery applications, in (Tchanche et al., 2009) for various other applications, and in (Tchanche et al., 2014) for different heat sources.

This paper, on the other hand, aims to present a fundamental holistic overview of ORC systems fuelled by low-grade heat sources in order to overcome the main impediments to their widespread use in small-scale applications. Therefore, design and operation principles, fields of implementation (in light of renewable energy and combined heat & power systems), and thermodynamic properties of the technology are examined, together with an in-depth analysis of the inherent challenges such as working fluid selection and expansion device issues. The novelty of the study is that it presents a holistic fundamental synopsis of all main areas of the technology, unlike the previous studies that addressed particular subjects. Hence, a fundamental overview of all aspects is summarised in this paper.

This article is organized as follows; first, the operation principles of a fundamental ORCs is presented. Then, the main field of the ORC implementation and market adaptability of the technology are provided. In addition, parameters when selecting a working fluid are evaluated. Also, details on expander selection are given. Besides, other components of a basic ORC system, including heat

exchangers and pumps, are assessed. Additionally, performance enhancement methods are investigated. Further, other alternative thermodynamic cycles for low-grade heat sources are underlined. Finally, an overall conclusion and the major outcomes of the study are provided.

Operational Principles

An ORC conceptually has the same working principle and components as a conventional steam Rankine cycle, but it uses an organic refrigerant to make the cycle adaptable for various temperatures. A basic ORC consists of four main components (an evaporator, a condenser, an expander, and a pump) circulating a low-boiling refrigerant in a closed circuit. The functionality of an ORC system strongly depends on the correlations between these components, and the working fluid circulating in the cycle (He et al., 2017).

In Figure 1, a typical configuration of these components are illustrated, together with the T-s diagram (temperature (T) and (s) entropy) of an organic dry fluid (n-Pentane) as an example. As seen from Figure 1, the refrigerant is first heated and evaporated at high pressure with the input heat source in stage (1-2). Second, the produced vapour is expanded to the lower pressure, where the mechanical work is produced in stage (2-3). The refrigerant is then condensed in stage (3-4), where the available heat is extracted from the process. Finally, the working fluid is pumped to its original high pressure as a liquid in stage (4-1) and the cycle is repeated (Lecompte et al., 2015). As a result of this operation principle, an ORC unit can provide both thermal and electrical energies from condenser and expander units, respectively (Pereira et al., 2018).

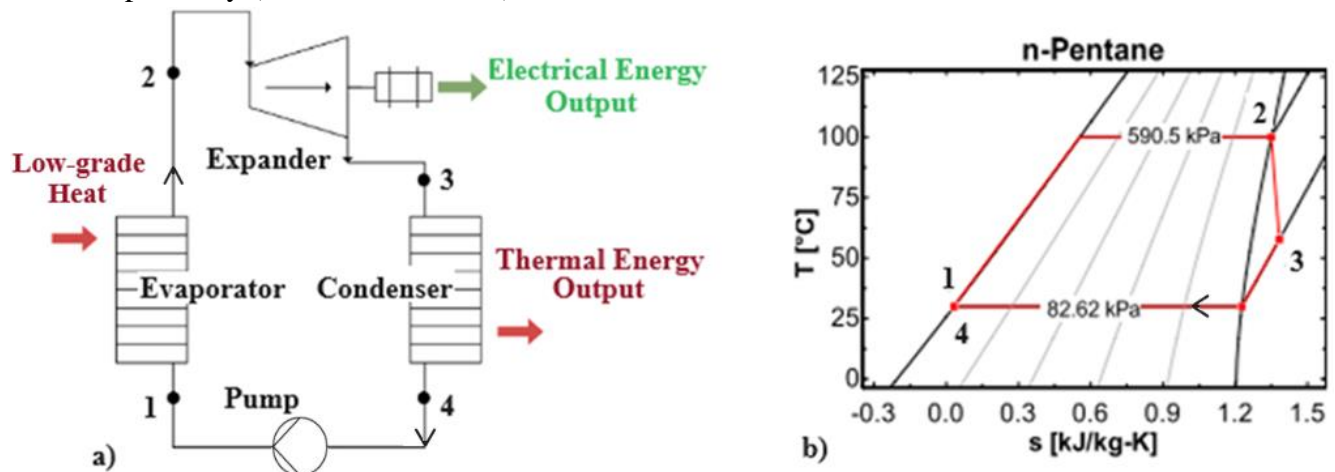


Figure 1. A typical ORC: a) Schematic representation, b) T-s diagram of n-Pentane refrigerant (Tourkov & Schaefer, 2015)

Applications and Market Adaptability

The modularity of the components, adaptability to the various temperature ranges, and non-complex operational characteristics enable the ORC to be used in various applications. These could be in power plants as a bottoming or topping cycles, or as a combined heat and power system with different heat sources such as solar, geothermal, biomass and fossil fuels, or residual heat streams (Vélez et al., 2012; Pereira et al., 2018).

Figure 2 summarises these feasible configurations of the ORC systems. As seen, the low-grade heat source of the ORC systems can be generated from renewables directly, through heat recovery processes indirectly, from the industrial processes in the form of waste heat, and other technologies such as district power cycles.

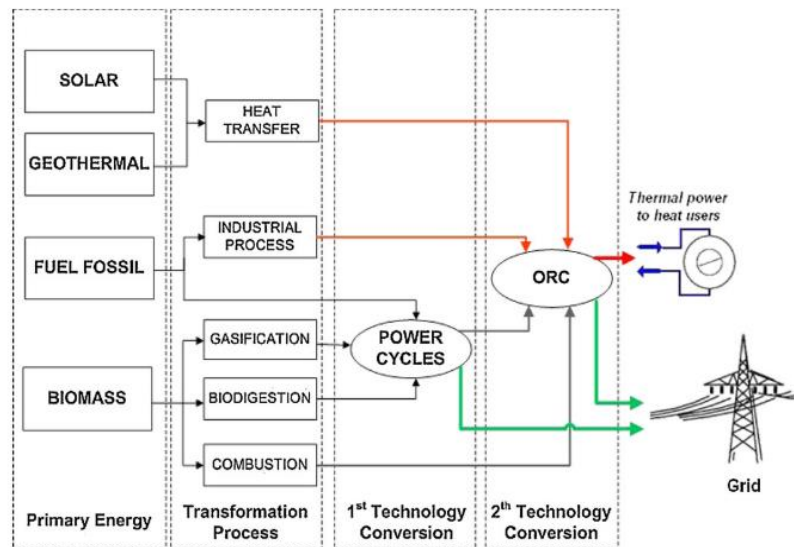


Figure 2. Possible ORC applications based on distinctive energy sources (Vélez et al., 2012)

The capacity of the ORCs can range significantly (from few kW to MW units) depending on the heat source and the purpose of the utilization. For instance, geothermal and biomass ORC applications have a heat source temperature range of 80-300 °C and can provide energy in large capacities (up to 20 MW of electricity equivalent). In addition, solar ORC applications have a significant potential to bring down the average size of the ORC systems into kW units, making the technology smaller enough for residential applications (Tartière & Astolfi, 2017).

Working Fluid Selection

The working fluid in an ORC plays a pivotal role in system performance and economy. It has a direct impact on the sizing of the system components, designing of the expander, and the system stability. According to (Chen et al., 2010), the saturation vapour curve is one of the most essential characteristics for categorizing the different working fluids in an ORC system. For example, on a temperature-entropy diagram (T-s), fluids can be assigned to three categories; wet fluids having a negative slope, isentropic fluids having an almost vertical slope, and dry fluids having a positive slope (Qiu, 2012; Bao & Zhao, 2013). The characteristics of these categories are visualised on a typical thermodynamic T-s diagram in Figure 3.

As seen from Figure 3, wet fluids (a), such as ammonia, have a negative slope ($dT/ds < 0$) in the T-s diagram, and the expansion process takes place inside the two-phase region (Vapour + Liquid). For wet fluids, this means that the outlet stream of the expander, may contain saturated liquid, which can cause severe damage to the expander (e.g. turbine blades) and reduce the thermodynamic efficiency of the turbine (Herath et al., 2020). To avoid this two-phase region, wet fluids used in ORC can be superheated before the expansion to satisfy the minimum dryness fraction of the outlet fluid, which should be around 85% (Saleh et al., 2007). However, adding another component to superheat the vapour can increase the total system cost significantly. These two disadvantages therefore limit the widespread use of wet fluids in ORC systems.

Also, due to having a nearly vertical ($dT/ds \approx 0$) and a positive ($dT/ds > 0$) slope in the T-s diagram, neither isentropic fluids nor dry fluids pose a threat to the expander (Saleh et al., 2007). For isentropic fluids, this is because the working fluid is expanded along a vertical line (see Figure 3-b), which means that the saturated vapour entering the expander device remains saturated throughout the expansion process and leaves the device without condensing (Chen et al., 2010). For dry fluids, similarly, there is

no threat of harming the expander as the outlet stream is guaranteed to be in the superheated region (beyond the saturation curve, see Figure 3-c). Thus, isentropic and dry fluids do not require superheating and become ideal options for ORC applications. However, it should be noted that “very dry” fluids may leave the expander in the form of superheated vapour with high temperatures, which is usually regarded as ‘waste heat’ and requires an additional cooling load in the system to increase the cycle efficiency (Chen et al., 2010; Bao & Zhao, 2013), (Herath et al., 2020). Also, this additional cooling component may lead the system to be more complex and less cost-effective (Herath et al., 2020), (Saleh et al., 2007). Nevertheless, to cogenerate heat and power from the low-grade heat sources, (Lecompte et al., 2015) and (Tourkov & Schaefer, 2015) noted that dry fluids can be safely used for ORC systems in low-grade heat sources, as superheated steam can be used to generate useful heat for space heating or domestic hot water supply instead of being treated as 'waste heat'. Finally, both fluid categories (isentropic and dry) have many candidates, such as R218, R134a, HCF134a, R600a, R245fa etc. that are suitable to be employed in low-grade heat source ORC systems (Qiu, 2012), (Freeman et al., 2017). Further, other significant thermodynamic and physical properties need to be considered when selecting a working fluid for an ORC are summarised as follows:

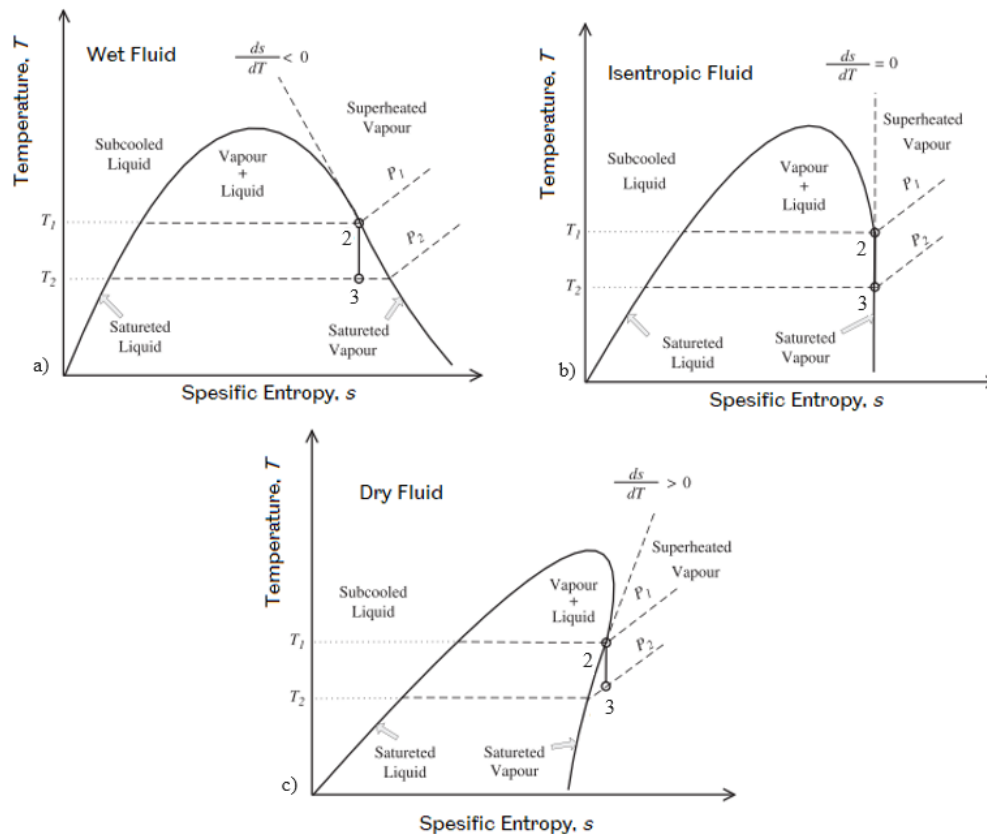


Figure 3. A typical T-s diagram for: a) wet, b) isentropic, and c) dry fluids (Bao & Zhao, 2013)

•**Critical temperature:** The critical point of a working fluid is the highest point of the saturation curve on a T-s diagram, and refers to the optimal operation temperatures of the fluid forms (liquid or vapour). Although it is acknowledged that employing a fluid with high critical temperature results in higher performances, the critical temperature of the working fluids employed in the ORC system (designed for low-temperature heat sources) should not be too high (Vetter et al., 2013). This is particularly important as the source temperature could not be sufficiently high to change the liquid form (from liquid to vapour) if the critical temperature point of the liquid is too high. Therefore, the working

fluids with low critical temperatures are preferable for the ORC system fuelled by low-grade heat sources (Vetter et al., 2013), (Marion et al., 2012).

However, if the critical temperature of the fluid is excessively low, it could be difficult to condense the vapour exiting the expander. The fluids like methane, for example, whose critical temperature is below 27 °C, may not even reject heat during the condensation (Marion et al., 2012).

•**Boiling temperature:** To be easily handled at ambient environment, the expected boiling temperature for the working fluid is between 0-100 °C (Qiu, 2012). Authors in (Guo et al., 2011) showed that the boiling temperature and critical point of the organic fluids increase simultaneously. The same authors also stated that a critical point lower than 200 °C may lead the boiling temperature of the same fluid to be lower than 100 °C, which is an achievable temperature that low-grade heat sources can provide.

•**Latent heat, molecular weight, density and specific heat:** According to the pioneering literature, working fluids with high latent heat, greater molecular weight, high density, and low specific heat are preferable. These properties allow the evaporator to absorb more energy from the heat source, reducing the size of the system (i.e. the pump, the evaporator and the condenser components). These characteristics also decrease the flow rate in the cycle which reduces the pump's energy consumption (Vélez et al., 2012).

•**Pressure:** According to (Moradi & Cioccolanti, 2024), fluids that require high operating pressure in a cycle make the process more efficient. However, it should be noted that such refrigerants tend to increase equipment costs and complexity of the system and affect the reliability (safety) of the system (Chen et al., 2010).

•**Enthalpy and conductivity:** A high enthalpy drop during the expansion is desirable for an ideal ORC working fluid (Qiu, 2012). This is best explained with the first law of thermodynamics where a high difference between the inlet and the outlet temperatures of the expander results in more power output for the system. Similarly, high conductivity is required for an ideal working fluid as it maximizes the heat transfer coefficient in the heat exchangers (Pourpasha et al., 2020).

•**Availability and cost:** Although the working fluid constitutes a small proportion of the entire investment cost in an ORC system, an ideal working fluid should be low-cost and abundant (Quoilin et al., 2013).

•**Safety:** A safe working fluid is often considered to be non-corrosive, non-toxic and non-flammable (Qiu, 2012; Bao & Zhao, 2013).

•**Environmental aspects:** The ozone depletion potential (ODP), global warming potential (GWP), and atmospheric lifetime (ALT) are the environmental indicators when a working fluid is considered (Bruno et al., 2008), (Chen et al., 2010). Accordingly, while R-11, R-12, R-113, R-114, and R-115 have already been phased out (Tchanche et al., 2009), some other fluids such as R- 21, R-22, R-123, R-124, R-141b and R-142b are set to be banned by 2030 (Pourpasha et al., 2020).

Expander Selection

Similar to the selection of the working fluid, there is a strong correlation between the performance of an ORC system and the type of expansion device used in the system. When an ORC system is designed, not all types of expanders are applicable for the imposed operating conditions, hence they may need further designs or modifications (Quoilin et al., 2010), (Bao & Zhao, 2013). The selection of the expander strongly depends on the size and operation conditions of the system, the selected working fluid, and the cost of the device itself (Saghatoun et al., 2014).

The expanders that are suitable for an ORC are generically categorized into two types: velocity type and volume type (also called turbo-expanders and positive-displacement expanders) (Quoilin, 2011). However, the velocity-type expanders are less appropriate for small-scale ORC applications run by low-grade heat sources. This is because they have high rotational speeds, low-pressure ratios, and high flow rates, which make them suitable for power outputs higher than 50 kW (Qiu et al., 2011; Quoilin et al., 2013). Further, velocity-type expanders cannot tolerate the hazardous effects of the two-phase condition such as damages to the turbine blades (Saghlataoun et al., 2014). Therefore, this section only gives further details on volume-type expanders suitable for small-scale applications (below 50 kW power outputs).

The volume-type expanders can be categorised as; screw expanders, reciprocal piston expanders, scroll expanders, and vane expanders (Imran et al., 2016). The following paragraphs present further details on efficiency, working temperatures and pressures, rotational speed, lubrication requirement, rated power output, availability, cost, reliability, leakage, and frictional losses of each type of expander as follows:

Screw expanders best suit the geothermal and waste heat recovery ORC applications. They have the widest range of capacity over other types with the reported power outputs varying in between 1.5 kW and 1MW (Smith et al., 2009). The approximate operation temperature and pressure of the screw expanders are 190 °C and 1.6 MPa, respectively (Lemort et al., 2009). In addition, the two-phase region entrance of the fluid is not a threat for these expanders due to the design of the device (Imran et al., 2016). Figure 4 shows the layout of a typical twin screw expander. The simple structure, a medium level of noise and cost, and a moderate efficiency (range from 20% to 70%) are other typical characteristics of the screw expanders (Dumont et al., 2018). However, it has to be noted that screw expanders are usually suggested for systems which have capacities higher than 10 kW due to increase levels of leakage losses in low capacities (Imran et al., 2016).

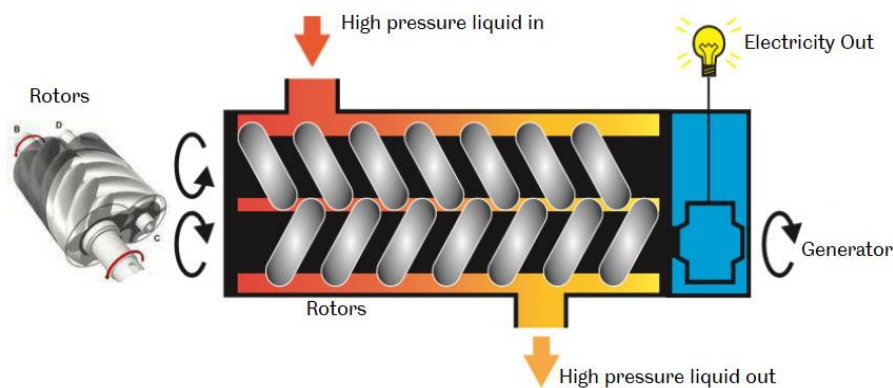


Figure 4. A typical twin screw expander (Smith et al., 2009)

Reciprocal piston expanders have mainly been used to generate heat and power simultaneously in waste-heat recovery processes from internal combustion engines (Glavatskaya et al., 2012). Although the highest recorded isentropic efficiency is 76%, their efficiency is usually lower than 50% (Saghlataoun et al., 2014). These expanders are known for their stability in high operational temperatures (380-560 °C) and pressures (9 MPa) (Dumont et al., 2018). Also, they are not affected by two-phase zone operations, as the device does not have a turbine design that would be affected by unsaturated vapour conditions. However, reliability is one of the main issues of piston expanders as they have many moving parts that need to work together. Hence, the leakage issues can be encountered in these moving parts (Dumont et al., 2018). Furthermore, the need for frequent lubrication and high operating and

maintenance costs are other major obstacles that must be overcome before this type can be widely used in small-scale applications.

Scroll expanders have the most complicated geometry (see Figure 5) compared to the other positive displacement expanders. However, they have attracted increasing interest in recent years as they are utilised to generate power outputs lower than 10 kW, making them suitable for small-scale applications such as the residential sector (Ziviani et al., 2015). This interest is also because they are cost-effective and do not require valves that increase the noise during the operation and reduce the durability of the device. Another major advantage of this type is that scroll expanders are able to start operating under any load profile without requiring a starting component or device. Further, they have a relatively better isentropic efficiency over screw & piston expanders and can operate under high temperature & pressure conditions (180 °C and 8.2 MPa, respectively) (Zywica et al., 2016). Scroll expanders have been used with different working fluids, and tested for small scale ORC systems fuelled by low-grade heat sources in various studies in literature, (Lemort et al., 2009), (Quoilin et al., 2010). However, it should be recognised that these expanders must be properly lubricated, otherwise, the corrosion issues may occur.

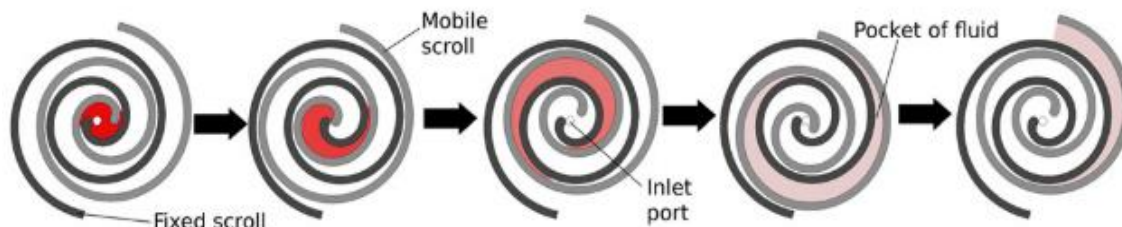


Figure 5. Working principle of a scroll expander (Quoilin et al., 2013)

Vane expanders have a high volumetric efficiency and torque output, and have a relatively simpler structure (shown in Figure 6), compared to other volumetric expanders (Kolasinski, 2019).

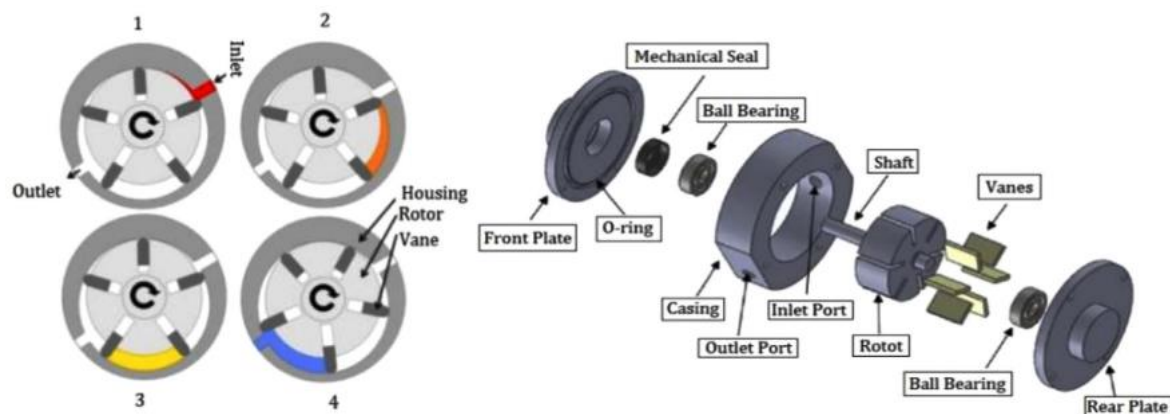


Figure 6. Working principle and components of a typical vane expander (Imran et al., 2016)

Vane expanders also have other advantages such as, high tolerance to the various vapour qualities, self-starting under different loads (similar to scroll type), and lower operation costs (Kolański et al., 2017). In addition, they have been tested in distinctive operational conditions under different ORCs, where minimum maintenance and lubrication requirements were observed (Imran et al., 2016). Also, they have low rotational speeds (1500–3000 rpm), hence can be directly attached to a generator without requiring a gearbox (Bao & Zhao, 2013). Low noise and vibration levels, durability in high temperatures and pressures (150 °C and 8MPa), and cost-effectiveness are the main characteristics of this expander type (Kolański et al., 2017). The power output of a vane expander can reach up to 10 kW. However, they are generally applicable for systems requiring power capacities up to 2 kW, making them

particularly suitable for small-scale ORC applications (Saghatoun et al., 2014). On the other hand, lubrication is still a main requirement to be considered (Dumont et al., 2018).

Overall, scroll and vane expanders are highly likely to be reasonable choices for small-scale ORC applications. They provide an acceptable level of performance over other types, together with the ability to work under high temperature and pressure operational conditions. Simple design, affordable cost, low level of noise, and high reliability are the other characteristics that make these expanders suitable for small-scale ORC applications.

Heat Exchanger and Pump Selection

Heat exchangers can be used both as evaporators and condensers in an ORC. They are responsible for a considerable percentage of the total cycle cost. In order to correctly size and optimize a heat exchanger, two key characteristics of the heat transfer have to be considered: efficiency and pressure drop. Taking these into account, it is agreed that plate heat exchangers are preferred in small-scale systems as they provide higher efficiencies (due to the larger heat transfer surface areas), while the tube & shell exchangers are usually used in large-scale systems (Li et al., 2011).

When a heat exchanger is used as an evaporator, the available heat can be transferred from the source to the evaporator in two different ways: direct evaporation or through a heat transfer loop. In the first method, the heat is directly transferred to the working fluid from the source, hence the exchanger acts as an evaporator to the system (Quoilin et al., 2013). Although this method is more efficient and conceptually has a simpler design, it involves two important challenges. First, in order to avoid corrosion and fouling concerns, direct evaporators must withstand high temperatures, which increases the overall cost of the unit due to the use of related materials (Sharabi et al., 2008). In addition, at high temperatures, deterioration of the organic fluid may occur, especially when the temperature of its maximum chemical stability is reached (Quoilin, 2011). Second, the controllability and stability of the ORC are hardly achievable with the direct evaporators due to the phase change process of the fluid occurring during the evaporation (Vittorini et al., 2018). In the second method (for transferring the heat), an intermediate heat transfer loop is used between the heat source and the evaporator, usually using a thermal storage unit. This heat transfer loop makes the ORC operation smoother by damping the fast variations of the heat sources (e.g. to control the superheating in a solar ORC system) (Pourpasha et al., 2020). Therefore, the heat transfer loop method is usually seen as the most suitable method for the small-scale ORC installations. In addition, the same principles are applied when a exchanger is used as a condenser. However, pressure drops should be limited to not allow the exchangers to interfere with the process (Li et al., 2011).

Pumps are the final components of a typical ORC system which need to be given a particular attention. There are three significant characteristics when selecting a pump. The first one is controllability as the pumps are utilized to control the variable mass-flow rates of the working fluid in the cycle. Hence, they should be applicable to different control methods, such as differential controllers, PID, etc (Klimaszewski et al., 2020).

The second parameter is efficiency. In general, the power consumption of a pump in a Rankine cycle is quite low compared to the power output of the total cycle, hence when designing such systems, the pump's power consumption is usually neglected (Wang et al., 2020). In an ORC, however, the pump's power consumption can significantly reduce the overall efficiency of the cycle (Benato et al., 2019). The ratio between the power consumption of a pump and the expander power output is called the

Back Work Ratio (BWR) and increases significantly when the evaporation temperature increases, thereby reducing the overall cycle efficiency (Wang et al., 2020).

The tightness is the final factor that needs to be considered. As aforementioned, the organic fluids can be flammable, toxic, and have high global warming potential, hence the selected pump must be resistant to these parameters (Klimaszewski et al., 2020).

ORC Performance Enhancement

The efficiency of an ORC can be enhanced through two different methods. The first method is to integrate an internal heat exchanger (IHE) into the cycle, after the expander (shown in Figure 7). As previously mentioned, some fluids may still have a considerable amount of heat after the expansion process, which is usually considered as ‘waste heat’. Thus, the IHE implementation aims to reuse this heat in the cycle and therefore increase the ORC efficiency. (Chen et al., 2010) stated in their studies that an IHE can be placed into a basic ORC system to capture this ‘waste heat’ for preheating the working fluid before sent to the evaporator. Preheating the working fluid essentially increases the thermal efficiency of the system. This is because with the same amount of heat source input (even if lower), a high power output from the cycle can be achieved as the refrigerant will already have been heated to some extent by the waste heat. Therefore, employing an IHE in an ORC system could be highly versatile for low-grade heat source applications (Lecompte et al., 2015). In order to implement an IHE, however, the working fluid should leave the expander without undergoing condensation. This is only possible if the dry or isentropic fluids are used (Yari, 2009). In the case of dry fluids, in particular, the temperature of the vapour exiting the expander is substantially higher than the condensation temperature, which makes the dry fluids particularly suitable for IHC-ORC systems (Tchanche et al., 2014). Figure 7 demonstrates the configuration of an IHE-ORC system and the T-s diagram of its working fluid which is the same fluid (n-Pentane) employed in Figure 1, hence the performance improvement of the system can be observed by comparing the T-s diagrams of these two figures.

In addition, there are two more modifications based on the first method (utilizing the waste heat from the expander): the open-feed organic fluid heater (OFOH) and the closed-feed organic fluid heater (CFOH). In these modifications, instead of an IHE, feed-liquid heaters are employed to preheat the working fluid. However, their designs are more complex and complicated compared to the IHE-ORC modification. Figure 8 shows the schematic diagrams of these modifications, where more details can be found in the previous studies conducted by (Lecompte et al., 2015; Tourkov & Schaefer, 2015).

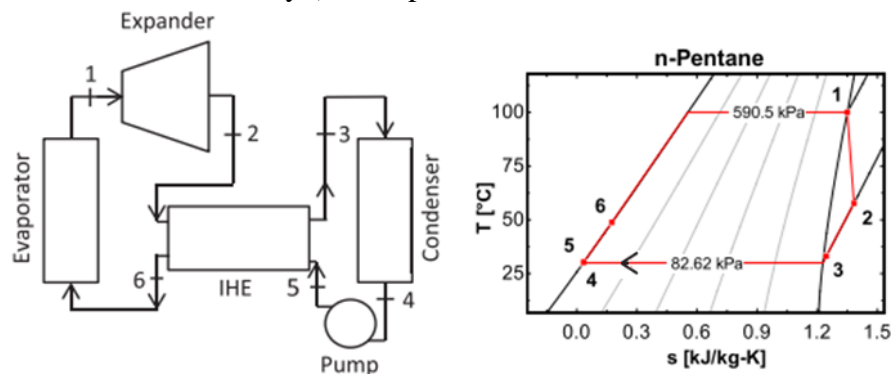


Figure 7. A typical IHE-ORC configuration and its T-s diagram (Tourkov & Schaefer, 2015)

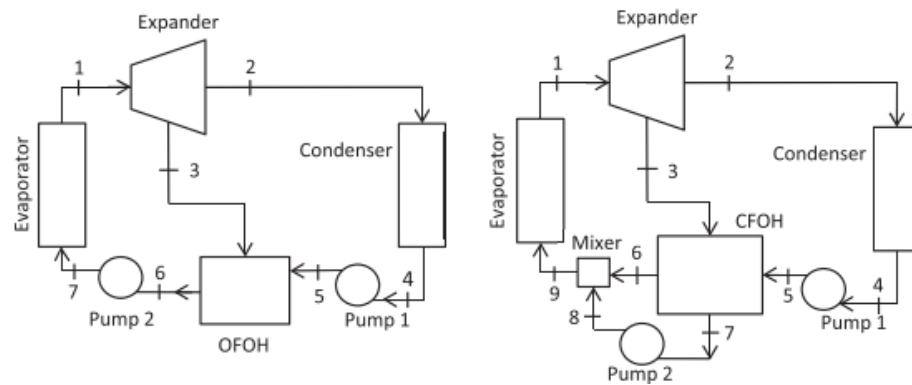


Figure 8. Typical OFOH-ORC (left) and CFOH-ORC (right) configurations (Tourkov & Schaefer, 2015)

The second method to increase the performance of a basic ORC is to superheat the vapour (before sending it to the expander) to operate the working fluid above its critical point in a T-s diagram (Moradi & Cioccolanti, 2024). In this method, however, thermo-physical features of the working fluid considerably influence the performance of the cycle. Therefore, fluids with high density and enthalpy are desirable. Among different categories (see section for the working fluid selection), wet fluids are more suitable to be superheated because superheating increases the temperature of saturated vapour, resulting in an increase in the power output of the cycle. This can be seen in Figure 9 (e.g. in wet fluids $h_1 - h_2 > h_1' - h_2'$). Likewise, it is also seen that the superheating process does not affect the performance of isentropic fluids (Hung et al., 2010) while it has a negative effect on the performance of the dry fluids.

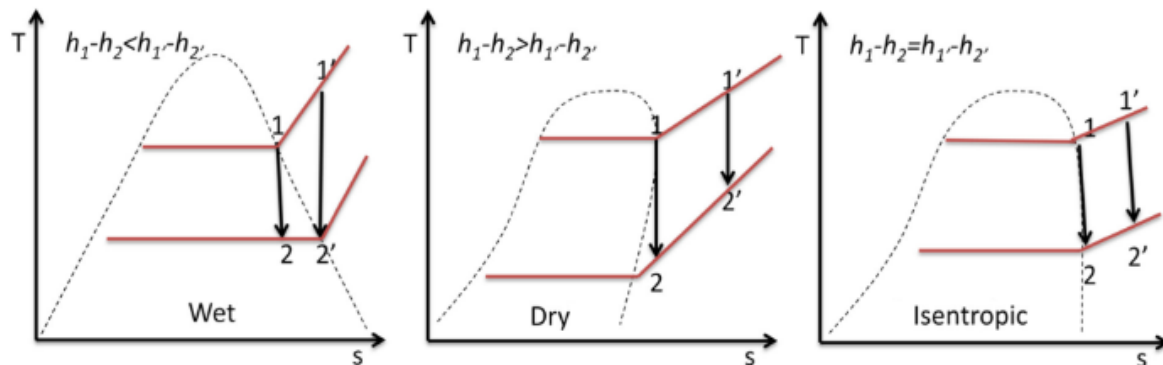


Figure 9. The effect of superheating on the fluid categories (Tchanche et al., 2014)

Other Alternative Cycles for Low-Grade Heat Conversion

Apart from the ORC, there are other thermodynamic cycles available in the literature that have been proposed and studied to convert low-grade heat sources into electricity or usable heat. The operational principles of these cycles are the same and based on a typical Rankine cycle. These alternative cycles, in a broad view, are the Kalina cycle, Goswami cycle, trilateral flash cycle, and supercritical Rankine cycle (SRC). Among these, the Kalina cycle is generally claimed to generate 15–50% more power output compared to the ORC (Shankar & Srinivas, 2016). However, (Tchanche et al., 2014) and (Chen et al., 2010) proved in their studies that the calculated performance difference between these two cycles is actually around 3% in favour of the Kalina cycle. In addition to this low actual performance difference, the Kalina cycle has a much more complex design due to the mixed working fluid process. This requires more maintenance and is less cost-effective compared to the ORCs (Pinto & Mady, 2020). As a result, for small-scale applications fuelled by low-grade heat sources, ORC outperforms the Kalina cycle.

Also, the Goswami cycle has a mixed working fluid process, which again makes the system more complex compared to the ORC (Demirkaya et al., 2018). Nevertheless, the main challenge with this cycle is the technical barriers, meaning that the power output and the cooling capacity in the cycle do not reach at their maximum level simultaneously. This leads the designers to set additional operating condition. Further details on this process can be found in (Vijayaraghavan & Goswami, 2006; Tchanche et al., 2014).

Different from the first two cycles, the trilateral cycle is based on a single working fluid process and is essentially a modified type of a basic Rankine cycle aiming to increase the efficiency of the cycle (Zamfirescu & Dincer, 2008). However, the availability of expanders, which must operate in two-phase regions and at high isentropic efficiencies, is still a major issue. According to (DiPippo, 2007), for example, an isentropic efficiency of 90% is required for these expanders to be economically viable in small-scale geothermal plants.

Among all ORC-alternative cycles, the SRC is the most favourable type to be compared with an ORC for small-scale applications. The principle of an SRC is based on compressing the working fluid (which has a relatively low critical temperature and pressure) directly to its supercritical pressure and heating this high-pressure fluid to its supercritical state before expansion process (Chen et al., 2010). Due to this low critical point and high pressurization, a better thermal performance over the ORCs is obtained from the low-grade heat sources, and this makes supercritical cycles suitable to be operated even in very low temperatures (Turchi et al., 2013).

Although there are very few different organic and inorganic fluids that have been tested and proposed as working fluids for the supercritical Rankine cycle (e.g. R123, R290, R-245fa, etc.), carbon dioxide (CO_2) is the most widely used working fluid for these cycles (Chen et al., 2006). This is because the CO_2 provides better power performance, heat transfer, and pressure drop features than the other available fluids. Also, it has a low critical point of 31 °C, making the supercritical point easily achievable (Chen et al., 2010). Furthermore, low acquisition cost is another favourable characteristic of the CO_2 to be used in SRCs. The T-s diagram of a typical SRC cycle using the CO_2 as the working fluid is shown in Figure 10.

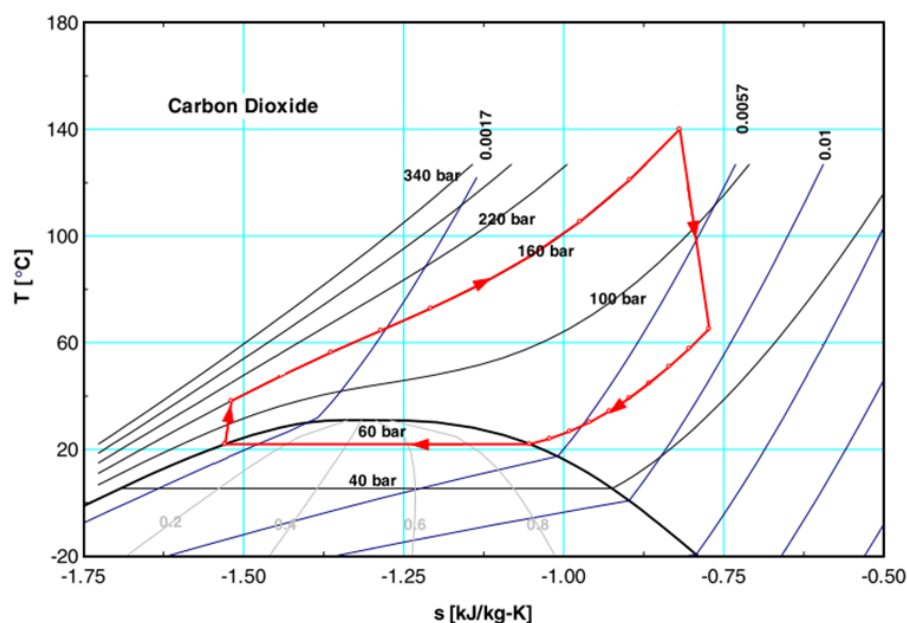


Figure 10. T-s Diagram of a typical SRC cycle using the CO_2 as the working fluid (Chen et al., 2010)

Nevertheless, employing the supercritical Rankine cycles in small-scale co-generative applications is quite challenging. This is first because the cycle operation at high pressures requires larger and more durable components, making the total system less cost-effective. In addition, high pressurization (e.g. 60–160 bar), creates safety concerns that require severe regulations (Yamaguchi et al., 2006). Moreover, the low critical temperature point (31 °C) of the CO₂ can actually be disadvantageous for the condensation process. This is particularly quite a challenge because the working fluid (CO₂) has to be condensed, preferably around 20 °C (see Figure 10) in the condensation process to close the cycle. However, for a system designed to provide both heat and power, this low condensing temperature may not guarantee to provide sufficient heat in many applications, such as domestic hot water or space heating.

CONCLUSION

In this study, a fundamental overview of the small-scale ORC applications fuelled by low-grade heat sources was presented. The examined aspects in this paper were the working principles of the ORCs, the main fields of their applications, selection criteria of their working fluid and expander, methods to increase their efficiency, and other alternative thermodynamic cycles that can possibly be used instead of the ORCs. The main conclusions drawn from these subjects are summarised as follows;

- ORC utilization can make the small-scale combined heat and power provision possible. This is because of the organic fluids that can be operated in various temperatures and low-grade heat sources (e.g. renewable sources).
- Solar, geothermal, biomass, and waste heat recovery are the primary fields of the current ORC applications. Geothermal or solar-integrated ORC applications, in particular, are promising technologies to scale down the size of ORCs into kW capacities. Thus, there has been an intensive interest in utilizing such combinations in residential applications to generate both thermal and electrical energy.
- Working fluid and expander selection are two main research areas for ORCs and have therefore been widely investigated in recent years.
- Dry and isentropic fluids are the most suitable refrigerant types for ORC applications due to their thermo-physical properties. However, more experimental research is needed to test these fluids in the future for widespread utilization.
- Volume-type expanders are more suitable than velocity-type expanders for ORC application that operate with low-grade heat sources. Moreover, scroll and vane expanders outperform other volumetric-type expanders in small scale applications. However, there is still a large research gap in the literature highlighting suitable expanders for ORC systems. Therefore, future studies should focus on this gap with an emphasis on leakage issues in existing expander types.
- The performance of an ORC can considerably be enhanced by implementing an internal heat exchanger to reuse the waste heat of the expander in the cycle.
- Although there are some other cycles (principally other modified Rankine cycles) suitable for low-grade heat conversion, ORC is still seen as the most favourable option for such applications due to its versatility, simple design, and low cost.

REFERENCES

- Babatunde, A., & Sunday, O. O. (2018). A review of working fluids for organic rankine cycle (ORC) applications. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 413, 012019. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/413/1/012019>

- Bao, J., & Zhao, L. (2013b). A review of working fluid and expander selections for organic Rankine cycle. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 24, 325–342. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.03.040>.
- Benato, A., Cavazzini, G., Bari, S., Ardizzon, G. (2019) 'ORC pump efficiency estimation and real behaviour under different working fluids', *Proceedings of the 32nd International Conference on Efficiency, Cost, Optimization, Simulation and Environmental Impact of Energy Systems*. Institute of Thermal Technology, pp. 2719–2730.
- Bruno, J. C., López-Villada, J., Letelier, E., Romera, S., & Coronas, A. (2008b). Modelling and optimisation of solar organic rankine cycle engines for reverse osmosis desalination. *Applied Thermal Engineering*, 28(17–18), 2212–2226. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2007.12.022>.
- chance, B., Lambrinos, G., Frangoudakis, A., & Papadakis, G. (2011). Low-grade heat conversion into power using organic Rankine cycles – A review of various applications. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 15(8), 3963–3979. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.024>.
- Chen, H., Goswami, D. Y., & Stefanakos, E. K. (2010). A review of thermodynamic cycles and working fluids for the conversion of low-grade heat. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 14(9), 3059–3067. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.006>.
- Chen, Y., Lundqvist, P., Johansson, A., & Platell, P. (2006). A comparative study of the carbon dioxide transcritical power cycle compared with an organic rankine cycle with R123 as working fluid in waste heat recovery. *Applied Thermal Engineering*, 26(17–18), 2142–2147. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2006.04.009>.
- Ciocolanti, L., Tascioni, R., & Arteconi, A. (2017). Simulation analysis of an innovative micro-solar 2kWe Organic Rankine Cycle plant for residential applications. *Energy Procedia*, 142, 1629–1634. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.12.541>.
- Demirkaya, G., Padilla, R. V., Fontalvo, A., Bula, A., & Goswami, D. Y. (2018). Experimental and theoretical analysis of the Goswami Cycle operating at low temperature heat sources. *Journal of Energy Resources Technology-transactions of the Asme*, 140(7). <https://doi.org/10.1115/1.4039376>.
- DiPippo, R. (2007). Ideal thermal efficiency for geothermal binary plants. *Geothermics*, 36(3), 276–285. <https://doi.org/10.1016/j.geothermics.2007.03.002>.
- Dumont, O., Parthoens, A., Dickes, R., & Lemort, V. (2018). Experimental investigation and optimal performance assessment of four volumetric expanders (scroll, screw, piston and roots) tested in a small-scale organic Rankine cycle system. *Energy*, 165, 1119–1127. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.06.182>.
- Freeman, J., Hellgardt, K., & Markides, C. N. (2017). Working fluid selection and electrical performance optimisation of a domestic solar-ORC combined heat and power system for year-round operation in the UK. *Applied Energy*, 186, 291–303. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.04.041>.
- Glavatskaya, Y., Podevin, P., Lemort, V., Shonda, O. F., & Descombes, G. (2012). Reciprocating expander for an exhaust heat recovery rankine cycle for a passenger car application. *Energies*, 5(6), 1751–1765. <https://doi.org/10.3390/en5061751>.
- Guo, T., Wang, H., & Zhang, S. (2011). Fluids and parameters optimization for a novel cogeneration system driven by low-temperature geothermal sources. *Energy*, 36(5), 2639–2649. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2011.02.005>.
- He, Z., Zhang, Y., Su, D., Ma, H., Yu, X., Yan, Z., Ma, X., Deng, N., & Sheng, Y. (2017). Thermodynamic analysis of a low-temperature organic Rankine cycle power plant operating at off-design conditions. *Applied Thermal Engineering*, 113, 937–951. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2016.11.006>.

- Herath, H., Wijewardane, M., Ranasinghe, C., & Jayasekera, J. (2020). Working fluid selection of Organic Rankine Cycles. *Energy Reports*, 6, 680–686. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2020.11.150>.
- Hung, T., Wang, S., Kuo, C., Pei, B., & Tsai, K. (2010). A study of organic working fluids on system efficiency of an ORC using low-grade energy sources. *Energy*, 35(3), 1403–1411. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2009.11.025>.
- Imran, M., Usman, M., Park, B. S., & Lee, D. H. (2016). Volumetric expanders for low grade heat and waste heat recovery applications. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 57, 1090–1109. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.139>.
- Klimaszewski, P. et al. (2020) ‘Design and performance analysis of ORC centrifugal pumps’, *Archives of Thermodynamics*. Polska Akademia Nauk, 41(4), pp. 203–222. doi: 10.24425/ather.2020.135860.
- Kolasinski, P. & Klonowicz, P. (2019) ‘Application of the multi-vane expanders in orc systems - A review on the experimental and modeling research activities’, *Energies*. MDPI AG, 12(15), p. 2975. doi: 10.3390/en12152975.
- Kolasiński, P., Błasiak, P., & Rak, J. (2017). Experimental investigation on multi-vane expander operating conditions in domestic CHP ORC system. *Energy Procedia*, 129, 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.09.201>.
- Lecompte, S., Huisseune, H., Van Den Broek, M., Vanslambrouck, B., & De Paepe, M. (2015). Review of organic Rankine cycle (ORC) architectures for waste heat recovery. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 47, 448–461. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.03.089>.
- Lemort, V., Quoilin, S., Cuevas, C., & Lebrun, J. (2009). Testing and modeling a scroll expander integrated into an Organic Rankine Cycle. *Applied Thermal Engineering*, 29(14–15), 3094–3102. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2009.04.013>.
- Li, W., Feng, X., Yu, L., & Xu, J. (2011). Effects of evaporating temperature and internal heat exchanger on organic Rankine cycle. *Applied Thermal Engineering*, 31(17–18), 4014–4023. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2011.08.003>.
- Marion, M., Voicu, I., & Tiffonnet, A. (2012). Study and optimization of a solar subcritical organic Rankine cycle. *Renewable Energy*, 48, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2012.04.047>.
- Moradi, R., & Cioccolanti, L. (2024). Modelling approaches of micro and small-scale organic Rankine cycle systems: A critical review. *Applied Thermal Engineering*, 236, 121505. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2023.121505>.
- Pereira, J. S., Ribeiro, J., Mendes, R., Vaz, G. C., & André, J. (2018). ORC based micro-cogeneration systems for residential application – A state of the art review and current challenges. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 92, 728–743. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.039>.
- Peris, B., Navarro-Esbrí, J., Molés, F., Martí, J. P., & Mota-Babiloni, A. (2015). Experimental characterization of an Organic Rankine Cycle (ORC) for micro-scale CHP applications. *Applied Thermal Engineering*, 79, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2015.01.020>.
- Pinto, C. R., & Mady, C. E. K. (2020). Comparing the thermodynamic performance of organic Rankine and Kalina cycles in solar energy systems. *Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering*, 42(11). <https://doi.org/10.1007/s40430-020-02682-y>.
- Pourpasha, H., Mohammadfam, Y., Khani, L., Mohammadpourfard, M., & Heris, S. Z. (2020). Thermodynamic and thermoeconomic analyses of a new dual-loop organic Rankine – Generator absorber heat exchanger power and cooling cogeneration system. *Energy Conversion and Management*, 224, 113356. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113356>.
- Qiu, G. (2012). Selection of working fluids for micro-CHP systems with ORC. *Renewable Energy*, 48, 565–570. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2012.06.006>.

- Qiu, G., Liu, H., & Riffat, S. (2011). Expanders for micro-CHP systems with organic Rankine cycle. *Applied Thermal Engineering*, 31(16), 3301–3307. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2011.06.008>.
- Quoilin, S. (2011) *Sustainable energy conversion through the use of Organic Rankine Cycles for waste heat recovery and solar applications*, PhD Thesis. University of Liège, Belgium.
- Quoilin, S., Aumann, R., Grill, A., Schuster, A., Lemort, V., & Spliethoff, H. (2011). Dynamic modeling and optimal control strategy of waste heat recovery Organic Rankine Cycles. *Applied Energy*, 88(6), 2183–2190. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.01.015>.
- Quoilin, S., Lemort, V., & Lebrun, J. (2010). Experimental study and modeling of an Organic Rankine Cycle using scroll expander. *Applied Energy*, 87(4), 1260–1268. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.06.026>.
- Quoilin, S., Orosz, M., Hemond, H. F., & Lemort, V. (2011). Performance and design optimization of a low-cost solar organic Rankine cycle for remote power generation. *Solar Energy*, 85(5), 955–966. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2011.02.010>.
- Quoilin, S., Van Den Broek, M., Declaye, S., Dewallef, P., & Lemort, V. (2013). Techno-economic survey of Organic Rankine Cycle (ORC) systems. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 22, 168–186. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.01.028>.
- Saghatoun, S., Zhuge, W., & Zhang, Y. (2014). Review of Expander Selection for Small-Scale Organic Rankine Cycle. *American Society of Mechanical Engineers*. <https://doi.org/10.1115/fedsm2014-21904>.
- Saleh, B., Koglbauer, G., Wendland, M., & Fischer, J. (2007). Working fluids for low-temperature organic Rankine cycles. *Energy*, 32(7), 1210–1221. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2006.07.001>.
- Shankar, R., & Srinivas, T. (2016). Options in Kalina cycle systems. *Energy Procedia*, 90, 260–266. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2016.11.193>.
- Sharabi, M., Ambrosini, W., He, S., & Jackson, J. D. (2008). Prediction of turbulent convective heat transfer to a fluid at supercritical pressure in square and triangular channels. *Annals of Nuclear Energy*, 35(6), 993–1005. <https://doi.org/10.1016/j.anucene.2007.11.006>.
- Smith, I. K., Stošić, N., Mujić, E., & Kovačević, A. (2011). Steam as the working fluid for power recovery from exhaust gases by means of screw expanders. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E: Journal of Process Mechanical Engineering*, 225(2), 117–125. <https://doi.org/10.1177/2041300910393429>.
- Tartière, T., & Astolfi, M. (2017b). A world overview of the organic rankine cycle market. *Energy Procedia*, 129, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.09.159>.
- Tchanche, B., Papadakis, G., Lambrinos, G., & Frangoudakis, A. (2009). Fluid selection for a low-temperature solar organic Rankine cycle. *Applied Thermal Engineering*, 29(11–12), 2468–2476. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2008.12.025>.
- Tchanche, B., Pétrissans, M., & Papadakis, G. (2014). Heat resources and organic Rankine cycle machines. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 39, 1185–1199. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.139>.
- Tourkov, K., & Schaefer, L. (2015). Performance evaluation of a PVT/ORC (photovoltaic thermal/organic Rankine cycle) system with optimization of the ORC and evaluation of several PV (photovoltaic) materials. *Energy*, 82, 839–849. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.01.094>.
- Turchi, C., Ma, Z., Neises, T., & Wagner, M. J. (2013). Thermodynamic study of advanced supercritical carbon dioxide power cycles for concentrating solar power systems. *Journal of Solar Energy Engineering-transactions of the Asme*, 135(4). <https://doi.org/10.1115/1.4024030>.

- Udeh, G. T., Michailos, S., Ingham, D., Hughes, K. J., Ma, L., & Pourkashanian, M. (2021). A techno-economic assessment of a biomass fuelled micro-CCHP driven by a hybrid Stirling and ORC engine. *Energy Conversion and Management*, 227, 113601. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113601>.
- Vélez, F., Segovia, J. J., Martín, M. C., AntolíN, G., Chejne, F., & Quijano, A. (2012). A technical, economical and market review of organic Rankine cycles for the conversion of low-grade heat for power generation. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 16(6), 4175–4189. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.03.022>.
- Vetter, C., Wiemer, H., & Kühn, D. (2013). Comparison of sub- and supercritical Organic Rankine Cycles for power generation from low-temperature/low-enthalpy geothermal wells, considering specific net power output and efficiency. *Applied Thermal Engineering*, 51(1–2), 871–879. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2012.10.042>.
- Vijayaraghavan, S., & Goswami, D. Y. (2006). A combined power and cooling cycle modified to improve resource utilization efficiency using a distillation stage. *Energy*, 31(8–9), 1177–1196. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2005.04.014>.
- Vittorini, D., Antonini, A., Cipollone, R., Carapellucci, R., & Villante, C. (2018). Solar Thermal-Based ORC Power Plant for Micro Cogeneration – Performance analysis and Control Strategy. *Energy Procedia*, 148, 774–781. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.08.133>.
- Wang, X., Feng, Y., Hung, T., He, Z., Lin, C., & Sultan, M. (2020). Investigating the system behaviors of a 10 kW organic rankine cycle (ORC) prototype using plunger pump and centrifugal pump. *Energies*, 13(5), 1141. <https://doi.org/10.3390/en13051141>.
- Yamaguchi, H., Zhang, X., Fujima, K., Enomoto, M., & Sawada, N. (2006). Solar energy powered Rankine cycle using supercritical CO₂. *Applied Thermal Engineering*, 26(17–18), 2345–2354. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2006.02.029>.
- Yari, M. (2009). Performance analysis of the different Organic Rankine Cycles (ORCs) using dry fluids. *International Journal of Exergy*, 6(3), 323. <https://doi.org/10.1504/ijex.2009.025324>.
- Zamfirescu, C., & Dinçer, İ. (2008). Thermodynamic analysis of a novel ammonia–water trilateral Rankine cycle. *Thermochimica Acta*, 477(1–2), 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2008.08.002>.
- Zhang, S., Wang, H., & Guo, T. (2011). Performance comparison and parametric optimization of subcritical Organic Rankine Cycle (ORC) and transcritical power cycle system for low-temperature geothermal power generation. *Applied Energy*, 88(8), 2740–2754. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.02.034>.
- Ziviani, D., Desideri, A., Lemort, V., De Paepe, M., & Van Den Broek, M. (2015). Low-order models of a single-screw expander for organic Rankine cycle applications. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 90, 012061. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/90/1/012061>.
- Żywica, G., Kaczmarczyk, T. Z., & Ihnatowicz, E. (2016). A review of expanders for power generation in small-scale organic Rankine cycle systems: Performance and operational aspects. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part A: Journal of Power and Energy*, 230(7), 669–684. <https://doi.org/10.1177/0957650916661465>.

Atf İçin: Çakal, M. ve Bacak-Turan, G. (2024). Bazı Transformasyon Çizgelerin Gutman İndeksinin Hesaplanması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 865-878.

To Cite: Çakal, M & Bacak-Turan, G. (2024). Computation of Gutman index of some Transformation Graphs. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 865-878.

Bazı Transformasyon Çizgelerin Gutman İndeksinin Hesaplanması

Merve ÇAKAL¹, Gökşen BACAĞ-TURAN^{2*}

Öne Çıkanlar:

- Matematiksel kimya
- Derece tabanlı topolojik indeksler
- Uzaklık tabanlı topolojik indeksler

Anahtar Kelimeler:

- Çizge teorisi
- Transformasyon Çizge
- Topolojik indeks
- Gutman indeksi

ÖZET:

Çizge teorisi günümüzde birçok alanda kullanılmaktadır. Bu alanlardan biri de matematiksel kimyadır. Bu alanda birçok topolojik indeks çalışılmıştır. Topolojik indeks, bir moleküler çizgenin topolojisini tanımlamak ve bunu ilgilenilen çeşitli özelliklerle ilişkilendirmek için kullanılır. Bu topolojik indekslerin en yaygın kullanılanları derece ve uzaklık tabanlı indekslerdir. Bu makalede kimyada önemli bir yere sahip olan Gutman indeksi incelenmiştir. Gutman indeksi hem derece hem de uzaklığın aynı anda kullanıldığı, literatürde kapsamlı olarak çalışılmış iyi bilinen bir topolojik indekstir ve kimya, fizik ve diğer alanlarda birçok uygulaması vardır. Transformasyon çizgeler ise kimya, bilgisayar bilimleri ve fizik gibi alanlarda moleküler yapıları, fiziksel ağları ve algoritmaları modellemek için kullanılabilen çizgelerdir. Bu çizgeler, bir çizgenin farklı transformasyonlar altındaki özelliklerinin incelenmesini sağladıklarından önemlidir. Orijinal çizgenin simetrisi, bağlantılılığı ve diğer yapısal özellikleri, bu transformasyonlar yoluyla ortaya çıkarılabilir. Bu makalede, bazı transformasyon çizgelerin Gutman indeksi bu çizgelerin özelliklerini incelemek için kullanılacak yeni bir topolojik indeks sağlamak amacıyla çalışılmış ve genel formüller elde edilmiştir.

Computation of Gutman index of Some Transformation Graphs

ABSTRACT:

Graph theory is widely used today in many fields, including mathematical chemistry. In this area, numerous topological indices have been studied. Topological indices are used to define the topology of a molecular graph and relate it to various relevant properties. The most commonly used topological indices are degree-based and distance-based indices. This article examines the Gutman index, which holds great significance in chemistry. The Gutman index is a well-known topological index that simultaneously uses both degree and distance. These graphs are important because they enable the study of the properties of a graph under different transformations. It has been extensively studied in the literature and finds numerous applications in chemistry, physics, and other fields. Transformation graphs are graphs that are used to model molecular structures, physical networks, and algorithms in fields such as chemistry, computer science and physics. Original graph's symmetry, connectivity and other structural features can be revealed through these transformations. This article focuses on studying the Gutman index of some transformation graphs to provide a new topological index that can be used to examine their properties, and general formulas have been obtained.

Highlights:

- Mathematical chemistry
- Degree based topological indices
- Distance based topological indices

Keywords:

- Graph theory
- Transformation Graphs
- Topological index
- Gutman index

¹ Merve ÇAKAL ([Orcid ID: 0000-0001-8075-0810](#)), Manisa Bahçeşehir Koleji, Manisa, Türkiye

² Gökşen BACAĞ-TURAN ([Orcid ID: 0000-0001-6935-4841](#)), Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü, Manisa, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Gökşen BACAĞ-TURAN, e-mail: goksen.turan@cbu.edu.tr

Bu çalışma Merve Çakal'ın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir..

GİRİŞ

Bu makalede, sadece basit ve sonlu bağlantılı çizgeler ele alınmış, kullanılan ancak burada tanımlanmayan notasyonlar ve terminolojiler için Chartrand ve Lesniak'ın kitabı kullanılmıştır (Chartrand ve Lesniak, 1996). Çizge teorisi günümüzde birçok alanda kullanılır. Bunlara örnek olarak bilgisayar, matematik, biyoloji, fizik ve kimya gösterilebilir. Örneğin kimya dalında moleküler çizge adını sıklıkla duyarız. Bu çizge, moleküllerdeki atomları ve kimyasal bağları temsil eder. Karbon atomlarını moleküler çizgedeki tepeler gösterirken, karbon-karbon bağlarını o çizgedeki ayrıtlar gösterir. Kimyasal bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerini tahmin etmek teorik kimyada zorlayıcı bir problem olarak kabul edilir. Moleküler yapıları fizikokimyasal özellikleriyle ilişkilendirmek için birçok öngörü yöntemi geliştirilmiştir ve geliştirilmektedir. Kimyasal çizge teorisinde bu tür yöntemlerin en önemlilerinden biri genellikle topolojik indeks olarak adlandırılır. Bir topolojik indeks, bir kimyasal yapının çeşitli fiziksel özellikleri, kimyasal reaktivite veya biyolojik aktivite ile nasıl ilişkili olduğunu gösteren sayısal bir değerdir. Topolojik indeksler, bir moleküler çizgenin topolojisini tanımlamak ve bunu ilgilenilen çeşitli özelliklerle ilişkilendirmek için kullanılır.

Bugüne kadar tanımlanmış ve üzerinde çalışılmış birçok farklı topolojik indeks bulunmaktadır (Asir ve Rabikka, 2022; Gursoy ve ark., 2022; Kırçalı Gürsoy, 2021; Singh ve Bhat, 2021). Bunlar arasında, uzaklık tabanlı ve derece tabanlı indeksler kimya biliminde önemli bir rol oynamaktadır. Uzaklığa bağlı olan topolojik indekslere Wiener indeks (Klavzar ve Gutman, 1997), Harary indeks (Plavsic ve ark., 1993) ve çarpımsal ağırlıklı Harary indeks (Alizadeh ve ark., 2013) örnek olarak gösterilebilir. Dereceye bağlı topolojik indekslere ise Zagreb indeksi (Gutman ve Das, 2004), Randic indeks (Randic, 1975), Harmonik indeks (Fajtlowicz, 1987), Geometrik-Aritmetik indeks (Vukicevic ve Furtula, 2009), atom bağı bağlantı indeksi (Furtula ve ark., 2009), Narumi-Katayama indeksi (Narumi ve Katayama, 1984) ve çarpımsal Zagreb indeksleri (Todeschini ve Consonni, 2010) örnek verilebilir.

Wiener indeks bir çizgedeki tüm tepe çiftleri arasındaki uzaklıklar toplamı olarak tanımlanmıştır (Wiener, 1947). Wiener indeksi üzerinde en çok çalışılan topolojik indekslerden biridir. Bu sebeple de çizge teorisinde çok önemli bir yere sahiptir (Klavzar ve Gutman, 1997; Wu, 2010). Wiener indeksin çizge teorisindeki kullanımı açısından çok yakından ilişkili olduğu bir diğer indeks olan Gutman indeksi de çizge teorisinde önemli bir yer tutmaktadır ve bu sebeple birçok çalışmaya konu olmuştur (Gutman, 1994; Andova ve ark., 2012; Gutman, 2013; Jamil, 2017). Gutman indeksi, bir çizgedeki tüm tepe çiftleri arasındaki uzaklık ve bu tepe çiftlerinin dereceleri kullanılarak hesaplanır. Bu sebeple Gutman indeksinin hem derece hem de uzaklığa bağlı bir topolojik indeks olduğunu söyleyebiliriz. Kaynama noktası, yoğunluk, yüzey gerilimi, kritik basınç, kritik hacim, ısı kapasitesi ve birçok maddenin buharlaşma ısısı dahil olmak üzere bir dizi fiziksel ve fizikokimyasal özellik ile başarılı korelasyonu, onu önemli bir indeks haline getirmektedir (Wardecki ve ark., 2023).

Transformasyon çizge, bir çizgenin tepeler ve ayrıtlar ile arasındaki bitişiklik ilişkisini ele alır. Bunu yaparken iki tepe arasındaki ilişkiyi, iki ayrıt arasındaki ilişkiyi ve bir tepe ile bir ayrıt arasındaki ilişkiyi kullanır. Bir çizgenin transformasyonu alındığında artık eski formunu kaybeder ve yeni bir çizge yapısı oluşur. Kodlanmış çizgeden verilen çizgeyi polinom zamanda çözmek mümkünse, böyle bir süreç orijinal çizgenin çeşitli yapısal özelliklerini transformasyon çizgeleri açısından analiz etmek için kullanılabilir (Wu and Meng, 2001). Bu yönüyle transformasyon çizgeleri birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve birçok çalışmaya konu olmuştur (Bacak-Turan ve Kırılancık, 2013; Eskiizmirli, 2016; Bacak-Turan and Öz, 2017; Aslan ve Açıkan, 2019; Roshini ve ark., 2020). Bu nedenle, bu

makalenin motivasyonu bazı özel çizgelerin transformasyon çizgeleri üzerinde Gutman indeksini incelemektir.

MATERYAL VE METOT

1994 yılında Gutman tarafından tanımlanan değiştirilmiş Schultz indeksi günümüzde Gutman indeksi olarak bilinmektedir.

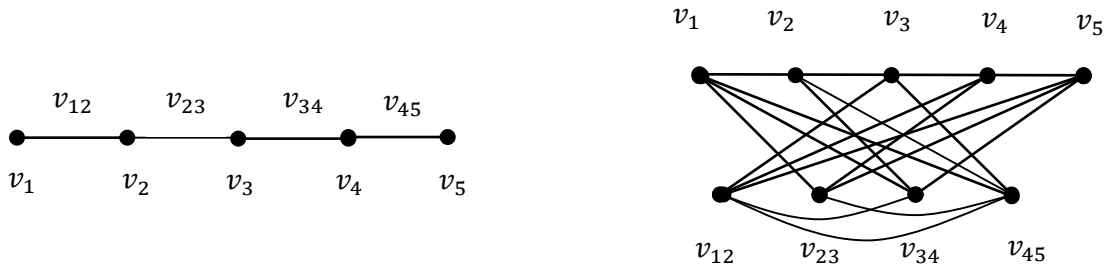
Tanım 1. $u, v \in V(G)$, $\deg(u)$ ve $\deg(v)$, u ve v tepelerinin dereceleri, $d(u, v)$ ise u ve v tepeleri arasındaki uzaklık olmak üzere Gutman indeksi aşağıdaki şekilde tanımlanır (Gutman, 1994).

$$Gut(G) = \sum_{u,v \in V(G)} \deg(u) \cdot \deg(v) \cdot d(u, v)$$

Tanım 2. $G = (V(G), E(G))$ bir çizge; x, y ve z ise $+$ veya $-$ değerlerini alabilen değişkenler olsun. Bu durumda G^{xyz} çizgesine G çizgesinin transformasyon çizgesi denir. $a, b \in V(G) \cup E(G)$ olmak üzere:

- $a, b \in V(G)$ ve $x = +$ ise a ve b G çizgesinde bitişik; $x = -$ ise bitişik değildir.
- $a, b \in E(G)$ ve $y = +$ ise a ve b G çizgesinde bitişik; $y = -$ ise bitişik değildir.
- $a \in V(G)$, $b \in E(G)$ ve $z = +$ ise a ve b G çizgesinde ilişkili; $z = -$ ise ilişkili değildir (Wu and Meng, 2001).

Bir G çizgesinin transformasyon çizgesindeki x, y, z değerlerinin alabileceği işaretlere göre permütasyon hesabı yapılırsa, bu çizgenin transformasyon çizgesinin 8 farklı şekilde oluşturulabileceğini söyleyebiliriz. Yani bir G çizgesinin transformasyon çizgeleri G^{+++} , G^{++-} , G^{+-} , G^{+--} , G^{---} , G^{--+} , G^{-++} , G^{-+-} şeklinde oluşturulabilir. P_5 çizgesi ve P_5 çizgesinin P_5^{+--} transformasyon çizgesi örnek olarak Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. P_5 çizgesi ve P_5^{+--} Transformasyon Çizgesi

Önerme 1. G , n tepesi ve m ayrıtı olan bir çizge ve G^{xyz} de G çizgesinin transformasyon çizgesi olsun. $u \in V(G)$ ve $e \in E(G)$ olmak üzere G^{xyz} transformasyon çizgesindeki tepelerin dereceleri aşağıdaki şekildedir (Roshini ve ark., 2020):

- $\deg_{G^{+++}}(u) = 2\deg_G(u)$ ve $\deg_{G^{+++}}(e) = \deg_G(u) + \deg_G(v)$.
- $\deg_{G^{++-}}(u) = m$ ve $\deg_{G^{++-}}(e) = \deg_G(u) + \deg_G(v) + n - 4$.
- $\deg_{G^{+-}}(u) = 2\deg_G(u)$ ve $\deg_{G^{+-}}(e) = m - \deg_G(u) - \deg_G(v) + 3$.
- $\deg_{G^{+--}}(u) = n - 1$ ve $\deg_{G^{+--}}(e) = \deg_G(u) + \deg_G(v)$.
- $\deg_{G^{---}}(u) = n + m - 2\deg_G(u) - 1$ ve $\deg_{G^{---}}(e) = n + m - \deg_G(u) - \deg_G(v) - 1$.
- $\deg_{G^{--+}}(u) = n - 1$ ve $\deg_{G^{--+}}(e) = m - \deg_G(u) - \deg_G(v) + 3$.
- $\deg_{G^{-++}}(u) = n + m - 1 - 2\deg_G(u)$ ve $\deg_{G^{-++}}(e) = n + \deg_G(u) + \deg_G(v) - 4$.
- $\deg_{G^{-+-}}(u) = m$ ve $\deg_{G^{-+-}}(e) = m + n - \deg_G(u) - \deg_G(v) - 1$.

Teorem 1. G bağlantılı bir çizge olmak üzere elde edilen transformasyon çizgenin çapı ile ilgili sınırlar aşağıda verilmiştir (Basavanagoud ve ark., 2011).

- $diam(G^{+++}) \leq diam(G)$,
- $diam(G^{+-+}) \leq 4$,
- $diam(G^{--+}) \leq 3$,
- x, y, z + veya - değerlerini alabilen üç değişken olmak üzere $diam(G^{xyz}) \leq 4$.

Lemma 1. G çizgesi yıldız çizgeye izomorf olmayan bağlantılı bir çizge olmak üzere $diam(G^{+-+}) \leq 3$ olacaktır (Wu and Meng, 2001).

Lemma 2. G çizgesi K_2 çizgesine izomorf olmayan bağlantılı bir çizge olmak üzere $diam(G^{--+}) \leq 4$ olacaktır (Wu and Meng, 2001).

Lemma 3. Bağlantılı bir G çizgesi bir yıldız çizgeye ya da üçgen çizgeye izomorf olmadığı sürece $diam(G^{---}) \leq 3$ olacaktır (Wu and Meng, 2001).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde yol çizgenin, çevre çizgenin ve yıldız çizgenin bazı transformasyon çizgelerindeki Gutman indeksi incelenmiş ve çizgelerin tepe sayısı üzerinden genel formüller elde edilmiştir.

Yol Çizgenin Transformasyon Çizgelerinin Gutman İndeksi

Bu bölümde P_n^{+--} , P_n^{+-+} , P_n^{--+} ve P_n^{-+-} transformasyon çizgelerinin Gutman indeksleri elde edilmiştir.

Teorem 2. P_n , $n \geq 5$ olan n tepeli bir yol çizge olmak üzere; P_n^{+--} transformasyon çizgesinin Gutman indeksi aşağıdaki gibidir:

$$Gut(P_n^{+--}) = 5n^4 - 24n^3 + 32n^2 + 10n - 38$$

İspat: P_n^{+--} çizgesinin tepe sayısı $n \geq 5$ olmak üzere $|V(P_n^{+--})| = 2n - 1$ dir. $V(P_n^{+--})$ tepeler kümesi aşağıdaki şekilde iki kümeye parçalansın:

$$V_1 = \{u_i \in V(P_n) : 1 \leq i \leq n \text{ ve } deg(u_i) = n - 1\}$$

$$V_2 = \{u_i u_{i+1} \in E(P_n) : 2 \leq i \leq n - 2, deg(u_i, u_{i+1}) = 2n - 6, deg(u_1 u_2) = deg(u_{n-1} u_n) = 2n - 5\}$$

Açıkça görülür ki $V(P_n^{+--}) = V_1 \cup V_2$ ve $V_1 \cap V_2 = \emptyset$ dir. Bu durumda:

$$\text{Durum i) } \forall v_i, v_j \in V_1 \text{ ve } i < j \text{ için } d(v_i, v_j) = \begin{cases} 1, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 2, & \text{diğer durumlarda} \end{cases} \text{ elde edilir.}$$

$j = i + 1$ ise iki tepe P_n çizgesinde bitişiktir ve tanım gereği P_n^{+--} transformasyon çizgesinde uzaklıkları 1 olur. Diğer durumda ise iki tepe P_n çizgesinde bitişik değildir. Ancak P_n^{+--} transformasyon çizgesinde bu iki tepeye de bitişik olan en az bir $u \in V_2$ tepesi olacaktır. Böylece $d(v_i, v_j) = 2$ olur.

$$\text{Durum ii) } \forall v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1} \in V_2 \text{ ve } i < j \text{ için } d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$$

elde edilir.

$j = i + 1$ ise iki ayrı P_n çizgesinde bitişiktir fakat P_n^{+--} transformasyon çizgesinde ayrıtların oluşturduğu bu iki tepe bitişik olmayacaktır. Ancak P_n^{+--} tanımından aralarındaki uzaklık her zaman bir $u \in V_1$ tepesi sayesinde 2 olacaktır. Aksi durumda ise iki ayrı P_n çizgesinde bitişik olmayacaktır ve

yine tanım gereği ayrıtların oluşturduğu bu iki tepenin aralarındaki uzaklık transformasyon çizgesinde 1 olacaktır.

$$\text{Durum iii)} \forall v_i \in V_1 \text{ ve } \forall v_j v_{j+1} \in V_2 \text{ için } d(v_i, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } i = j \text{ veya } i = j + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$$

elde edilir.

$v_j v_{j+1} \in V(P_n^{+--}) \cap V_2$ tepesine karşılık gelen $v_j v_{j+1} \in E(P_n)$ ayrıtı, P_n^{+--} transformasyon çizgesi tanımı gereği P_n^{+--} çizgesinde v_j ve v_{j+1} tepeleri hariç tüm tepelerle bitişiktir. Bu durumda $i \neq j$ veya $i \neq j + 1$ iken $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 1$ olacaktır. Diğer durumlarda ise iki tepeye bitişik olan en az bir $u \in V_1 \cup V_2$ tepesi olacaktır. Böylece $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 2$ olur.

$$\text{Gut}(P_n^{+--}) = \sum_{x,y \in V(P_n^{+--})} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y) = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y) + \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y) + \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y)$$

Yukarıdaki ifadeyi

$$A = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y),$$

$$B = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y) \text{ ve}$$

$$C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y) \text{ olarak parçalayalım.}$$

$$A = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_j) \cdot d(v_i, v_j) = \sum_{i=1}^{n-1} \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_{i+1}) \cdot d(v_i, v_{i+1}) +$$

$$\sum_{i < j+1}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_{i+1}) \cdot d(v_i, v_{i+1}) = (n-1)[(n-1) \cdot (n-1) \cdot 1] + \frac{(n-2)(n-1)}{2} \cdot (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2$$

Buradan $A = n^4 - 4n^3 + 6n^2 - 4n + 1$ olarak elde edilir.

$$B = \sum_{i=2}^{n-3} \text{deg}(v_i v_{i+1}) \cdot \text{deg}(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{i=2}^{n-2} \sum_{\substack{j=2 \\ i \neq j+1}}^{n-2} \text{deg}(v_i v_{i+1}) \cdot \text{deg}(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1})$$

$$+ \sum_{i=3}^{n-2} \text{deg}(v_1 v_2) \cdot \text{deg}(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_1 v_2, v_i v_{i+1}) +$$

$$\sum_{i=2}^{n-3} \text{deg}(v_{n-1} v_n) \cdot \text{deg}(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_{n-1} v_n, v_i v_{i+1})$$

$$+ \text{deg}(v_1 v_2) \cdot \text{deg}(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_1 v_2, v_{n-1} v_n) + \text{deg}(v_1 v_2) \cdot \text{deg}(v_2 v_3) \cdot d(v_1 v_2, v_2 v_3) +$$

$$\text{deg}(v_{n-1} v_n) \cdot \text{deg}(v_{n-2} v_{n-1}) \cdot d(v_{n-1} v_n, v_{n-2} v_{n-1})$$

$$= (2n-6) \cdot (2n-6) \cdot 2 \cdot (n-4) + \frac{(n-4)(n-5)}{2} \cdot (2n-6) \cdot (2n-6) \cdot 1 + (n-4) \cdot (2n-5) \cdot (2n-6) \cdot 1 +$$

$$(n-4) \cdot (2n-5) \cdot (2n-6) \cdot 1 + (2n-5) \cdot (2n-5) \cdot 1 + (2n-5) \cdot (2n-6) \cdot 2 + (2n-5) \cdot (2n-6) \cdot 2$$

Buradan $B = 2n^4 - 14n^3 + 30n^2 - 10n - 23$ olarak elde edilir.

$$C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x,y) = \sum_{i=1}^n \sum_{\substack{j=2 \\ i \neq j-1 \\ i \neq j}}^{n-2} \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1})$$

$$+ \sum_{i=2}^{n-1} \sum_{\substack{j=2 \\ i=j-1 \\ i=j}}^{n-2} \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1}) + \sum_{i=3}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_1 v_2) \cdot d(v_i, v_1 v_2)$$

$$\begin{aligned}
& + \sum_{i=1}^{n-2} \deg(v_i) \cdot \deg(v_{n-1}v_n) \cdot d(v_i, v_{n-1}v_n) + \deg(v_1) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_1, v_1v_2) \\
& + \deg(v_2) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_2, v_1v_2) + \deg(v_{n-1}) \cdot \deg(v_{n-1}v_n) \cdot d(v_{n-1}, v_{n-1}v_n) \\
& \quad + \deg(v_2) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_2, v_1v_2) + \deg(v_{n-1}) \cdot \deg(v_{n-1}v_n) \cdot d(v_{n-1}, v_{n-1}v_n) \\
& = (n-1) \cdot (2n-6) \cdot 1 \cdot (n^2-5n+6) + (n-1) \cdot (2n-6) \cdot 2 \cdot (2n-6) \\
& \quad + (n-1) \cdot (2n-5) \cdot (n-2) \cdot 1 + (n-1) \cdot (2n-5) \cdot 1 \cdot (n-2) + (n-1) \cdot (2n-5) \cdot 2 \\
& \quad + (n-1) \cdot (2n-5) \cdot 2 + (n-1) \cdot (2n-5) \cdot 2 + (n-1) \cdot (2n-5) \cdot 2
\end{aligned}$$

Buradan $C = 5n^4 - 24n^3 + 32n^2 + 10n - 38$ olarak elde edilir.

Son olarak $A + B + C$ işlemi yapıldığında aşağıdaki sonuca ulaşılır:

$$Gut(P_n^{+--}) = 5n^4 - 24n^3 + 32n^2 + 10n - 38$$

Örnek 1: Şekil 1'de verilen P_5^{+--} transformasyon grafinin Gutman indeksi aşağıda hesaplanmıştır.

$$\begin{aligned}
Gut(P_5^{+--}) &= \sum_{x,y \in V(P_5^{+--})} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x,y) = \deg(v_1) \cdot \deg(v_2) \cdot d(v_1, v_2) + \\
& \deg(v_1) \cdot \deg(v_3) \cdot d(v_1, v_3) + \deg(v_1) \cdot \deg(v_4) \cdot d(v_1, v_4) + \deg(v_1) \cdot \deg(v_5) \cdot d(v_1, v_5) + \\
& \deg(v_2) \cdot \deg(v_3) \cdot d(v_2, v_3) + \deg(v_2) \cdot \deg(v_4) \cdot d(v_2, v_4) + \deg(v_2) \cdot \deg(v_5) \cdot d(v_2, v_5) + \\
& \deg(v_3) \cdot \deg(v_4) \cdot d(v_3, v_4) + \deg(v_3) \cdot \deg(v_5) \cdot d(v_3, v_5) + \deg(v_4) \cdot \deg(v_5) \cdot d(v_4, v_5) + \\
& \deg(v_1v_2) \cdot \deg(v_2v_3) \cdot d(v_1v_2, v_2v_3) + \deg(v_1v_2) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_1v_2, v_3v_4) + \\
& \deg(v_1v_2) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_1v_2, v_4v_5) + \deg(v_2v_3) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_2v_3, v_3v_4) + \\
& \deg(v_2v_3) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_2v_3, v_4v_5) + \deg(v_3v_4) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_3v_4, v_4v_5) + \\
& \deg(v_1) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_1, v_1v_2) + \deg(v_1) \cdot \deg(v_2v_3) \cdot d(v_1, v_2v_3) + \deg(v_1) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_1, v_3v_4) + \\
& \deg(v_1) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_1, v_4v_5) + \deg(v_2) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_2, v_1v_2) + \deg(v_2) \cdot \deg(v_2v_3) \cdot d(v_2, v_2v_3) + \\
& \deg(v_2) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_2, v_3v_4) + \deg(v_2) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_2, v_4v_5) + \deg(v_3) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_3, v_1v_2) + \\
& \deg(v_3) \cdot \deg(v_2v_3) \cdot d(v_3, v_2v_3) + \deg(v_3) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_3, v_3v_4) + \deg(v_3) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_3, v_4v_5) + \\
& \deg(v_4) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_4, v_1v_2) + \deg(v_4) \cdot \deg(v_2v_3) \cdot d(v_4, v_2v_3) + \deg(v_4) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_4, v_3v_4) + \\
& \deg(v_4) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_4, v_4v_5) + \deg(v_5) \cdot \deg(v_1v_2) \cdot d(v_5, v_1v_2) + \deg(v_5) \cdot \deg(v_2v_3) \cdot d(v_5, v_2v_3) + \\
& \deg(v_5) \cdot \deg(v_3v_4) \cdot d(v_5, v_3v_4) + \deg(v_5) \cdot \deg(v_4v_5) \cdot d(v_5, v_4v_5)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
Gut(P_5^{+--}) &= 4.4.1 + 4.4.2 + 4.4.2 + 4.4.2 + 4.4.1 + 4.4.2 + 4.4.2 + 4.4.1 + 4.4.2 + 4.4.1 + 5.4.2 + 5.4.1 \\
& + 5.5.1 + 4.4.2 + 4.5.1 + 4.5.2 + 4.5.2 + 4.4.1 + 4.4.1 + 4.5.1 + 4.5.2 + 4.4.2 + 4.4.1 \\
& + 4.5.1 + 4.5.1 + 4.4.2 + 4.4.2 + 4.5.1 + 4.5.1 + 4.4.1 + 4.4.2 + 4.5.2 + 4.5.1 + 4.4.1 \\
& + 4.4.1 + 4.5.2 = 937
\end{aligned}$$

Teorem 2'de elde edilen formülde $n=5$ yerine yazıldığında sonuçların eşit olduğu görülmektedir.

$$Gut(P_n^{+--}) = 5n^4 - 24n^3 + 32n^2 + 10n - 38$$

$$Gut(P_5^{+--}) = 5 \cdot 5^4 - 24 \cdot 5^3 + 32 \cdot 5^2 + 10 \cdot 5 - 38 = 937$$

Teorem 3. P_n , $n \geq 5$ olan n tepeli bir yol çizge olmak üzere; P_n^{++-} transformasyon çizgesinin Gutman İndeksi aşağıdaki gibidir:

$$Gut(P_n^{++-}) = 3n^4 - 8n^3 + n^2 + 6n + 7$$

İspat: P_n^{++-} çizgesi $n \geq 5$ olmak üzere; $|V(P_n^{++-})| = 2n - 1$ olacaktır. $V(P_n^{++-})$ tepeler kümesi aşağıdaki şekilde iki kümeye parçalsın:

$$V_1 = \{u_i \in V(P_n): 1 \leq i \leq n \text{ ve } \deg(u_i) = n - 1\}$$

$$V_2 = \{u_i u_{i+1} \in E(P_n): 2 \leq i \leq n - 2, \deg(u_i, u_{i+1}) = n \text{ ve } \deg(u_1 u_2) = \deg(u_{n-1} u_n) = n - 1\}$$

Açıkça görülür ki $V(P_n^{++-}) = V_1 \cup V_2$ ve $V_1 \cap V_2 = \emptyset$ dir. Bu durumda:

Durum i) $\forall v_i, v_j \in V_1$ ve $i < j$ için $d(v_i, v_j) = \begin{cases} 1, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 2, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$ elde edilir.

$j = i + 1$ olursa P_n çizgesinde iki tepe bitişiktir ve tanım gereği P_n^{++-} transformasyon çizgesinde uzaklıkları 1 olacaktır. Diğer durumda ise P_n çizgesinde bu iki tepe bitişik değildir. Ancak P_n^{++-} transformasyon çizgesinde her iki tepeye de bitişik olan en az bir $u \in V_2$ tepesi olacaktır. Böylece $d(v_i, v_j) = 2$ olacaktır.

Durum ii) $\forall v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1} \in V_2$ ve $i < j$ için $d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 1, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 2, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$ elde edilir. Bu sonuç bir önceki duruma benzer şekilde gösterilebilir.

Durum iii) $\forall v_i \in V_1$ ve $\forall v_j v_{j+1} \in V_2$ için $d(v_i, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } i = j \text{ veya } i = j + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$

elde edilir.

$v_j v_{j+1} \in V(P_n^{++-}) \cap V_2$ tepesine karşılık gelen $v_j v_{j+1} \in E(P_n)$ ayrıtı, P_n^{++-} transformasyon çizge tanımı gereği P_n^{++-} çizgesinde v_j ve v_{j+1} tepeleri hariç tüm tepelerle bitişiktir. Bu durumda $i \neq j$ veya $i \neq j + 1$ iken $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 1$ olacaktır. Diğer durumlarda ise iki tepeye bitişik olan en az bir $u \in V_1 \cup V_2$ tepesi olacaktır. Böylece $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 2$ olur.

$$Gut(P_n^{++-}) = \sum_{x,y \in V(P_n^{++-})} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y)$$

$$\text{Yukarıdaki ifadeyi } A = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y),$$

$$B = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) \quad \text{ve} \quad C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) \quad \text{olarak}$$

parçalayalım.

$$A = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^n deg(v_i) \cdot deg(v_j) \cdot d(v_i, v_j)$$

$$= \sum_{\substack{i=1 \\ j=i+1}}^{n-1} deg(v_i) \cdot deg(v_{i+1}) \cdot d(v_i, v_{i+1}) + \sum_{i < j+1}^n deg(v_i) \cdot deg(v_{i+1}) \cdot d(v_i, v_{i+1})$$

$$= (n-1)[(n-1) \cdot (n-1) \cdot 1] + \frac{(n-2)(n-1)}{2} \cdot (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2$$

Buradan $A = n^4 - 4n^3 + 6n^2 - 4n + 1$ olarak elde edilir.

$$B = \sum_{j=i+1}^{n-3} deg(v_i v_{i+1}) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{\substack{i,j=2 \\ i < j+2}}^{n-3} deg(v_i v_{i+1}) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) + \sum_{i=3}^{n-2} deg(v_1 v_2) \cdot deg(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_1 v_2, v_i v_{i+1}) +$$

$$\sum_{i=2}^{n-3} deg(v_{n-1} v_n) \cdot deg(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_{n-1} v_n, v_i v_{i+1})$$

$$+ deg(v_1 v_2) \cdot deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_1 v_2, v_{n-1} v_n) + deg(v_1 v_2) \cdot deg(v_2 v_3) \cdot d(v_1 v_2, v_2 v_3)$$

$$+ deg(v_{n-1} v_n) \cdot deg(v_{n-2} v_{n-1}) \cdot d(v_{n-1} v_n, v_{n-2} v_{n-1})$$

$$= (n-1) \cdot n \cdot n \cdot 1 + \frac{(n-4) \cdot (n-5)}{2} \cdot n \cdot n \cdot 2 + (n-4) \cdot n \cdot (n-1) \cdot 2 + (n-4) \cdot n \cdot (n-1) \cdot 2$$

$$+ n \cdot (n-1) \cdot 1 + n \cdot (n-1) \cdot 1 + (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2$$

Buradan $B = n^4 - 4n^3 + 10n^2 + 2$ olarak elde edilir.

$$\begin{aligned}
C &= \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) \\
&= \sum_{i=1}^n \sum_{\substack{j=2 \\ i \neq j-1 \\ i \neq j}}^{n-2} \deg(v_i) \cdot \deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1}) + \\
&\sum_{i=2}^{n-1} \sum_{\substack{j=2 \\ i=j-1 \\ i=j}}^{n-2} \deg(v_i) \cdot \deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1}) + \sum_{i=3}^n \deg(v_i) \cdot \deg(v_1 v_2) \cdot d(v_i, v_1 v_2) \\
&\quad + \sum_{i=1}^{n-2} \deg(v_i) \cdot \deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_i, v_{n-1} v_n) + \deg(v_1) \cdot \deg(v_1 v_2) \cdot d(v_1, v_1 v_2) \\
&+ \deg(v_2) \cdot \deg(v_1 v_2) \cdot d(v_2, v_1 v_2) + \deg(v_{n-1}) \cdot \deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_{n-1}, v_{n-1} v_n) \\
&+ \deg(v_n) \cdot \deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_n, v_{n-1} v_n) \\
&= (n-1) \cdot n \cdot 1 \cdot (n^2 - 5n + 6) + (n-1) \cdot n \cdot 2 \cdot (2n-6) + (n-1)^2 \cdot (n-2) \cdot 1 + (n-1)^2 \cdot 1 \cdot (n-2) \\
&\quad + (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2 + (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2 + (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2 + (n-1) \cdot (n-1) \cdot 2
\end{aligned}$$

Buradan $C = n^4 - 5n^2 + 4$ olarak elde edilir.

Sonuç olarak $A + B + C$ işlemi yapıldığında ispat tamamlanır:

$$Gut(P_n^{++-}) = 3n^4 - 8n^3 + n^2 + 6n + 7$$

Teorem 4. P_n , $n \geq 5$ olan n tepeli bir yol çizge olmak üzere; P_n^{---} transformasyon çizgesinin Gutman indeksi aşağıdaki gibidir:

$$Gut(P_n^{---}) = 8n^4 - 44n^3 + 56n^2 + 64n - 139$$

İspat: P_n^{---} çizgesi $n \geq 5$ olmak üzere: $|V(P_n^{---})| = 2n - 1$ olacaktır. $V(P_n^{---})$ tepeler kümesi aşağıdaki şekilde iki kümeye parçalsın:

$$V_1 = \{u_i \in V(P_n): 2 \leq i \leq n-1, \deg(u_i) = 2n-6 \text{ ve } \deg(u_1) = \deg(u_n) = 2n-4\}$$

$$V_2 = \{u_i u_{i+1} \in E(P_n): 2 \leq i \leq n-2, \deg(u_i, u_{i+1}) = 2n-6, \deg(u_1 u_2) = \deg(u_{n-1} u_n) = 2n-5\}$$

Açıkça görülür ki $V(P_n^{---}) = V_1 \cup V_2$ ve $V_1 \cap V_2 = \emptyset$ dir. Bu durumda:

$$\text{Durum i)} \forall v_i, v_j \in V_1 \text{ ve } i < j \text{ için } d(v_i, v_j) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases} \text{ elde edilir.}$$

$j = i + 1$ olması durumunda iki tepe P_n çizgesinde bitişiktir, bu durumda P_n^{---} transformasyon çizgesinde $u \in V_2$ olacak şekilde bir tepe aracılığı ile $d(v_i, v_j) = 2$ olacaktır. $j \neq i + 1$ olması durumunda ise P_n^{---} transformasyon çizge tanımından $d(v_i, v_j) = 1$ olacaktır.

Durum ii) $\forall v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1} \in V_2$ ve $i < j$ için $d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$ elde edilir.

$j = i + 1$ olursa P_n çizgesinde iki ayrı bitişiktir fakat P_n^{---} transformasyon çizge tanımından P_n^{---} transformasyon çizgesinde bu ayrıtlardan oluşan tepelerin aralarındaki uzaklık her zaman bir $u \in V_1$ tepesi sayesinde 2 olacaktır. Aksi durumda ise P_n çizgesinde iki ayrı bitişik olmayacaktır ve yine tanım gereği ayrıtlardan oluşan bu tepelerin aralarındaki uzaklık 1 olacaktır.

$$\text{Durum iii)} \forall v_i \in V_1 \text{ ve } \forall v_j v_{j+1} \in V_2 \text{ için } d(v_i, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } i = j \text{ veya } i = j + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$$

elde edilir.

$v_j v_{j+1} \in V(P_n^{---}) \cap V_2$ tepesine karşılık gelen $v_j v_{j+1} \in E(P_n)$ ayrıtı, P_n^{---} transformasyon çizge tanımı gereği P_n^{---} çizgesinde v_j ve v_{j+1} tepeleri hariç tüm tepelerle bitişiktir. Bu durumda $i \neq j$

veya $i \neq j + 1$ iken $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 1$ olacaktır. Diğer durumlarda ise iki tepeye bitişik olan en az bir $u \in V_1 \cup V_2$ tepesi olacaktır. Böylece $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 2$ olur.

$$Gut(P_n^{---}) = \sum_{x,y \in V(P_n^{---})} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y)$$

Yukarıdaki ifadeyi

$$A = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y)$$

$$B = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) \text{ ve}$$

$$C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y) \text{ olarak parçalayalım.}$$

$$A = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^n deg(v_i) \cdot deg(v_j) \cdot d(v_i, v_j) = \sum_{i=2}^{n-2} deg(v_i) \cdot deg(v_{i+1}) \cdot d(v_i, v_{i+1}) +$$

$$\sum_{j=4}^{n-1} \sum_{\substack{i=2 \\ i < j-1}}^{n-3} deg(v_i) \cdot deg(v_j) \cdot d(v_i, v_j) + \sum_{i=3}^{n-1} deg(v_1) \cdot deg(v_i) \cdot d(v_1, v_i) +$$

$$\sum_{i=2}^{n-2} deg(v_n) \cdot deg(v_i) \cdot d(v_n, v_i) + deg(v_1) \cdot deg(v_2) \cdot d(v_1, v_2) +$$

$$deg(v_{n-1}) \cdot deg(v_n) \cdot d(v_{n-1}, v_n) + deg(v_1) \cdot deg(v_n) \cdot d(v_1, v_n)$$

Buradan $A = 2n^4 - 10n^3 + 10n^2 + 18n - 32$ olarak elde edilir.

$$B = \sum_{j=i+1}^{n-3} deg(v_i v_{i+1}) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{i=2}^{n-2} \sum_{\substack{j=3 \\ i \neq j+1}}^{n-2} deg(v_i v_{i+1}) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{i=3}^{n-2} deg(v_1 v_2) \cdot deg(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_1 v_2, v_i v_{i+1}) +$$

$$\sum_{i=2}^{n-3} deg(v_{n-1} v_n) \cdot deg(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_{n-1} v_n, v_i v_{i+1}) +$$

$$deg(v_1 v_2) \cdot deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_1 v_2, v_{n-1} v_n) + deg(v_1 v_2) \cdot deg(v_2 v_3) \cdot d(v_1 v_2, v_2 v_3)$$

$$+ deg(v_{n-1} v_n) \cdot deg(v_{n-2} v_{n-1}) \cdot d(v_{n-1} v_n, v_{n-2} v_{n-1})$$

Buradan $B = 2n^4 - 14n^3 + 30n^2 - 10n - 23$ olarak elde edilir.

$$C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} deg(x) \cdot deg(y) \cdot d(x, y)$$

$$= \sum_{i=2}^{n-2} deg(v_i) \cdot deg(v_i v_{i+1}) \cdot d(v_i, v_i v_{i+1}) +$$

$$\sum_{j=3}^{n-2} \sum_{\substack{i=2 \\ i < j}}^{n-3} deg(v_i) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{j=2}^{n-3} \sum_{\substack{i=4 \\ i > j+1}}^{n-1} deg(v_i) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1}) + \sum_{j=2}^{n-2} deg(v_1) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_1, v_j v_{j+1}) +$$

$$deg(v_1) \cdot deg(v_1 v_2) \cdot d(v_1, v_1 v_2) + deg(v_1) \cdot deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_1, v_{n-1} v_n) +$$

$$\sum_{j=2}^{n-2} deg(v_n) \cdot deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_n, v_j v_{j+1}) + deg(v_n) \cdot deg(v_1 v_2) \cdot d(v_n, v_1 v_2)$$

$$+ deg(v_n) \cdot deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_n, v_{n-1} v_n) + \sum_{i=2}^{n-2} deg(v_i) \cdot deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_i, v_{n-1} v_n) +$$

$$deg(v_{n-1}) \cdot deg(v_{n-1} v_n) \cdot d(v_{n-1}, v_{n-1} v_n)$$

Buradan $C = 4n^4 - 20n^3 + 16n^2 + 56n - 84$ olarak elde edilir.

Sonuç olarak $A + B + C$ işlemi yapıldığında aşağıdaki sonuca ulaşılır.

$$Gut(P_n^{---}) = 8n^4 - 44n^3 + 56n^2 + 64n - 139$$

Teorem 5. P_n , $n \geq 5$ olan n tepeli bir yol çizge olmak üzere; P_n^{-+} transformasyon çizgesinin Gutman İndeksi aşağıdaki gibidir:

$$Gut(P_n^{-+}) = \frac{6n^4 - 26n^3 + 39n^2 - 19n - 2}{2}$$

İspat: P_n^{--+} çizgesi $n \geq 5$ olmak üzere: $|V(P_n^{--+})| = 2n - 1$ olacaktır. $V(P_n^{--+})$ tepeler kümesi aşağıdaki şekilde iki kümeye parçalansın:

$$V_1 = \{u_i \in V(P_n): 1 \leq i \leq n \text{ ve } \deg(u_i) = n - 1\}$$

$$V_2 = \{u_i u_{i+1} \in E(P_n): 2 \leq i \leq n - 2 \text{ için } \deg(u_i, u_{i+1}) = n - 2, \deg(u_1, u_2) = \deg(u_{n-1}, u_n) = n - 1\}$$

Açıkça görülür ki $V(P_n^{--+}) = V_1 \cup V_2$ ve $V_1 \cap V_2 = \emptyset$ dir. Bu durumda:

Durum i) $\forall v_i, v_j \in V_1$ ve $i < j$ için $d(v_i, v_j) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$ elde edilir.

$j = i + 1$ olması durumunda P_n çizgesinde iki tepe bitişiktir, bu durumda P_n^{--+} transformasyon çizgesinde $u \in V_2$ olacak şekilde bir tepe ile mutlaka $d(v_i, v_j) = 2$ olacaktır. $j \neq i + 1$ olması durumunda ise P_n^{--+} transformasyon çizge tanımından $d(v_i, v_j) = 1$ olacaktır.

Durum ii) $\forall v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1} \in V_2$ ve $i < j$ için $d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } j = i + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$ elde edilir.

$j = i + 1$ olursa P_n çizgesinde iki ayrıt bitişiktir fakat P_n^{--+} transformasyon çizge tanımından, P_n^{--+} çizgesinde ayrıtlardan oluşan bu iki tepenin aralarındaki uzaklık her zaman bir $u \in V_1$ tepesi sayesinde 2 olacaktır. Aksi durumda ise P_n çizgesinde iki ayrıt bitişik olmayacaktır ve yine tanım gereği ayrıtların oluşturduğu bu iki tepenin aralarındaki uzaklık 1 olacaktır.

Durum iii) $\forall v_i \in V_1$ ve $\forall v_j v_{j+1} \in V_2$ için $d(v_i, v_j v_{j+1}) = \begin{cases} 1, & \text{eğer } i = j \text{ veya } i = j + 1 \text{ ise} \\ 2, & \text{diğer durumlarda} \end{cases}$

elde edilir.

v_i ve $v_j v_{j+1}$ tepeleri $i = j$ veya $i = j + 1$ olduğu durumda bitişiktir ve tanım gereği $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 1$ olacaktır. Diğer durumlarda ise $d(v_i, v_j v_{j+1}) = 2$ olacak şekilde en az bir $u \in V_1 \cup V_2$ tepesi olacaktır.

$$Gut(P_n^{--+}) = \sum_{x,y \in V(P_n^{--+})} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y)$$

$$\text{Yukarıdaki ifadeyi } A = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y),$$

$$B = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) \quad \text{ve} \quad C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) \quad \text{olarak}$$

parçalayalım.

$$A = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^n \deg(v_i) \cdot \deg(v_j) \cdot d(v_i, v_j) = \sum_{\substack{i=1 \\ j=i+1}}^{n-1} \deg(v_i) \cdot \deg(v_j) \cdot d(v_i, v_j) +$$

$$\sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j+1}}^n \deg(v_i) \cdot \deg(v_j) \cdot d(v_i, v_j)$$

$$\text{Buradan } A = \frac{n^4 - n^3 - 3n^2 + 5n - 2}{2} \text{ olarak elde edilir.}$$

$$B = \sum_{\substack{i=1 \\ j=i+1}}^n \deg(v_i v_{i+1}) \cdot \deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j+2}}^{n-1} \deg(v_i v_{i+1}) \cdot \deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i v_{i+1}, v_j v_{j+1})$$

$$\text{Buradan } B = \frac{n^4 - 7n^3 + 28n^2 - 56n + 42}{2} \text{ olarak elde edilir. } C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \deg(x) \cdot \deg(y) \cdot d(x, y) =$$

$$\sum_{\substack{i=1 \\ i \neq j \\ i \neq j+1}}^{n-1} \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j \\ i \neq j+1}}^{n-1} \deg(v_i) \cdot \deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1}) +$$

$$\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{\substack{j=1 \\ i=j \\ i=j+1}}^{n-1} \deg(v_i) \cdot \deg(v_j v_{j+1}) \cdot d(v_i, v_j v_{j+1})$$

Buradan $C = 2n^4 - 10n^3 + 22n^2 - 22n + 8$ olarak elde edilir.

Son olarak $A + B + C$ işlemini yaparsak aşağıdaki sonuca ulaşırız.

$$Gut(P_n^{--+}) = \frac{6n^4 - 28n^3 + 69n^2 - 95n + 56}{2}$$

Çevre Çizgenin Transformasyon Çizgelerinin Gutman İndeksi

Bu bölümde C_n^{+--} , C_n^{-+-} , C_n^{--+} , C_n^{---} ve C_n^{++-} transformasyon çizgelerinin Gutman indeksleri için genel formüller verilmiştir. İspatlar yol çizgenin ispatlarına benzer şekilde yapılmaktadır.

Teorem 6. $n \geq 3$ olmak üzere n tepeli bir C_n çevre çizgesinin çeşitli transformasyon çizgelerinin Gutman indeksleri aşağıdaki gibidir:

- $Gut(C_n^{+--}) = \frac{10n^4 - 22n^3 - 15n^2 + 25n}{2}$
- $Gut(C_n^{-+-}) = \frac{10n^4 - 22n^3 - 15n^2 + 25n}{2}$
- $Gut(C_n^{--+}) = 3n^4 - 7n^3 + 5n^2 - n$
- $Gut(C_n^{---}) = 8n^4 - 28n^3 - 10n^2 + 75n$
- $Gut(C_n^{++-}) = 3n^4 - 2n^3$

Yıldız Çizgenin Transformasyon Çizgelerinin Gutman İndeksi

Bu bölümde S_n^{+-} , S_n^{++} , S_n^{-+} , S_n^{--} , S_n^{+-} ve S_n^{++} transformasyon çizgelerinin Gutman indeksleri için genel sonuçlar elde edilmiştir.

Teorem 7. $n \geq 3$ olmak üzere n tepeli bir S_n yıldız çizgesinin çeşitli transformasyon çizgelerinin Gutman indeksleri aşağıdaki gibidir:

- $Gut(S_n^{+-}) = 5n^4 - 22n^3 + 36n^2 - 28n + 9$
- $Gut(S_n^{++}) = \frac{n^4 + 9n^3 - 10n^2 - 24n + 24}{2}$
- $Gut(S_n^{-+}) = \frac{n^4 + 7n^3 - 19n^2 + 5n + 6}{2}$
- $Gut(S_n^{--}) = 24n^2 - 60n + 36$
- $Gut(S_n^{+-}) = 3n^4 - 12n^3 + 17n^2 - 11n + 3$
- $Gut(S_n^{++}) = \frac{6n^4 - 16n^3 + 11n^2 + n - 2}{2}$

İspat a) S_n^{+-} çizgesi S_n çizgesinin bir transformasyon çizgesi olsun. $|V(S_n^{+-})| = 2n - 1$ olacaktır. $V(S_n^{+-})$ tepeler kümesi aşağıdaki şekilde iki kümeye parçalansın:

$$V_1 = \{u_i \in V(S_n) : 1 \leq i \leq n \text{ ve } \deg(u_i) = n - 1\}$$

$$V_2 = \{u_1 u_i \in E(S_n) : 2 \leq i \leq n, \deg(u_1 u_i) = 2n - 4\}$$

Burada v_1 tepesi merkez tepe kabul edilmiştir. Açıkça görülür ki $V(S_n^{+-}) = V_1 \cup V_2$ ve $V_1 \cap V_2 = \emptyset$ dir. Bu durumda:

$$\text{Durum i) } \forall v_i, v_j \in V_1 \text{ ve } i < j \text{ için } d(v_i, v_j) = \begin{cases} 1, & \text{eğer } i = 1 \text{ ise} \\ 2, & \text{diğer durumlarda} \end{cases} \text{ elde edilir.}$$

$i = 1$ olursa, S_n çizgesinde iki tepe bitişiktir ve S_n^{+-} transformasyon çizgesinde uzaklıkları 1 olacaktır. Diğer durumda ise S_n çizgesinde iki tepe bitişik değildir. Ancak S_n^{+-} transformasyon çizgesinde her iki tepeye de bitişik olan en az bir $u \in V_1 \cup V_2$ tepesi olacaktır. Böylece $d(v_i, v_j) = 2$ olacaktır.

Durum ii) $\forall v_1 v_i, v_1 v_j \in V_2$, $i < j$ ve $i, j > 1$ için $d(v_1 v_i, v_1 v_j) = 1$ elde edilir. Çünkü S_n çizgesindeki tüm ayrıtlar birbirine bitişiktir ve S_n^{++-} transformasyon çizge tanımından, S_n^{++-} çizgesinde ayrıtların oluşturduğu iki tepe arasındaki uzaklık her zaman 1'dir.

Durum iii) $\forall v_i \in V_1$ ve $\forall v_1 v_j \in V_2$, $i < j$ ve $j > 1$ için

$$d(v_i, v_1 v_j) = \begin{cases} 2, & \text{eğer } j = i \text{ veya } j = i + 1 \text{ ise} \\ 1, & \text{diğer durumlarda} \end{cases} \text{ elde edilir.}$$

$j = i$ veya $j = i + 1$ olması durumunda mutlaka bir $u \in V_1 \cup V_2$ tepesi ile $d(v_i, v_1 v_j) = 2$ olacaktır. Aksi halde S_n^{++-} transformasyon çizge tanımı gereği $d(v_i, v_1 v_j) = 1$ olacaktır.

$$\begin{aligned} \text{Gut}(S_n^{++-}) &= \sum_{x,y \in V(S_n^{++-})} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y) = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y) + \\ &\frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y) + \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y) \end{aligned}$$

$$\text{Yukarıdaki ifadeyi } A = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_1} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y),$$

$$B = \frac{1}{2} \sum_{x,y \in V_2} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y) \quad \text{ve} \quad C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y) \quad \text{olarak}$$

parçalayalım.

$$A = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_j) \cdot d(v_i, v_j)$$

$$= \sum_{i=2}^n \text{deg}(v_1) \cdot \text{deg}(v_i) \cdot d(v_1, v_i) + \sum_{i=2}^n \sum_{\substack{j=2 \\ i < j}}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_j) \cdot d(v_i, v_j)$$

$$= (n-1) \cdot (n-1) \cdot 1 \cdot (n-1) + (n-1) \cdot (n-1) \cdot \frac{(n-1)(n-2)}{2} \cdot 2$$

Buradan $A = n^4 - 4n^3 + 6n^2 - 4n + 1$ olarak elde edilir.

$$B = \sum_{i=2}^n \sum_{\substack{j=2 \\ i < j}}^n \text{deg}(v_1 v_i) \cdot \text{deg}(v_1 v_j) \cdot d(v_1 v_i, v_1 v_j) = (2n-4) \cdot (2n-4) \cdot 1 \cdot \frac{(n-1)(n-2)}{2}$$

Buradan $B = 2n^4 - 14n^3 + 36n^2 - 40n + 16$ olarak elde edilir.

$$C = \frac{1}{2} \sum_{\substack{x \in V_1 \\ y \in V_2}} \text{deg}(x) \cdot \text{deg}(y) \cdot d(x, y)$$

$$\begin{aligned} &= \sum_{i=2}^n \text{deg}(v_1) \cdot \text{deg}(v_1 v_i) \cdot d(v_1, v_1 v_i) + \sum_{i=2}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_1 v_i) \cdot d(v_i, v_1 v_i) \\ &+ \sum_{i=2}^n \sum_{\substack{j=2 \\ i \neq j}}^n \text{deg}(v_i) \cdot \text{deg}(v_1 v_j) \cdot d(v_i, v_1 v_j) \end{aligned}$$

$$= (n-1) \cdot (2n-4) \cdot 2 \cdot (n-1) + (n-1) \cdot (2n-4) \cdot 2 \cdot (n-1) + (n-1) \cdot (2n-4) \cdot 1 \cdot (n-1) \cdot (n-2)$$

Buradan $C = 2n^4 - 4n^3 - 6n^2 + 16n - 8$ olarak elde edilir.

Son olarak $A + B + C$ işlemi yapıldığında aşağıdaki sonuca ulaşılır:

$$\text{Gut}(S_n^{++-}) = 5n^4 - 22n^3 + 36n^2 - 28n + 9$$

Diğer ispatlar da benzer şekilde yapılmaktadır.

SONUÇ

Çizge teorisinin en yaygın kullanım alanlarından biri matematiksel kimya dalıdır. Bu alanda birçok topolojik indeks üzerinde çalışılmıştır. Bu indekslerin bazıları dereceye, bazıları ise uzaklığa bağlıdır. Bir topolojik indeks olan Gutman indeksinde ise hem derece hem uzaklık aynı anda kullanılmaktadır. Bu çalışmada yol çizge, çevre çizge ve yıldız çizgenin bazı transformasyon çizgelerinin Gutman indeksi incelenmiş ve genel formüller elde edilmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkıları

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Asir T., Rabikka V. (2022). The Wiener index of the zerodivisor graph of Z_n , *Discrete Applied Mathematics*, 319, 461-471.
- Alizadeh, Y., Iranmanesh, A. ve Doslic, T. (2013). Additively Weighted Harary Index of Some Composite Graphs. *Discrete Mathematics*, 313 (1), 26-34.
- Andova, V., Dimitrov, D., Fink, J. ve Skrekovski, R. (2012). Bounds on Gutman Index. *MATCH Communications in Mathematical and in Computer Chemistry*, 67, 515-524.
- Aslan, E. ve Açan, B. (2019). Transformasyon Grafların Komşu İzole Saçılım Sayısı. *Journal of Natural and Applied Sciences*, 23(2), 625-629.
- Bacak-Turan, G. ve Kırılıngıç, A. (2013). Neighbor Integrity of Transformation Graphs. *International Journal of Foundations of Computer Science*, 24(3), 303-317.
- Bacak-Turan, G. ve Oz, E. (2017). Neighbor Rupture Degree of Transformation Graphs G^{xy} . *International Journal of Foundations of Computer Science*, 28 (4), 335-355.
- Basavanagoud, B., Patil, H. P. ve Veeragoudar, J. B. (2011). On the Block-Transformation Graphs, Graph-Equations and Diameters. *International Journal of Advances in Science and Technology*, 2(2).
- Chartrand, G. ve Lesniak, L. (1996). *Graphs and Digraphs*. California: Chapman and Hall.
- Eskiizmirli, S., Bacak-Turan, G. ve Polat, R. (2016). Neighbor Rupture Degree of Total Graphs and Their Complements. *Bulletin of the International Mathematical Virtual Institute*, 6(1), 55-64.
- Fajtlowicz, S. (1987). On conjectures of Graffiti-II. *Congressus Numerantium*, 60, 187-197.
- Furtula, B., Graovac, A. ve Vukicevic, D. (2009). Atom-bond connectivity index of trees. *Discrete Applied Mathematics*, 157(13), 2828-2835.
- Gursoy, A., Ülker, A. ve Kırılıngıç, N. (2022). Sombor index of zero-divisor graphs of commutative rings. *Analele Stiintifice Ale Universitatii Ovidius Constanta-Seria Matematica*, 30(2), 231-257.
- Gutman, I. (1994). Selected properties of the Schultz molecular topological index. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 34(5), 1087-1089.
- Gutman, I. ve Das, K.C. (2004). The first Zagreb index 30 years after. *MATCH Communications in Mathematical and in Computer Chemistry*. 50, 83-92.
- Gutman, I. (2013). Degree-Based Topological Indices. *Croatica Chemica Acta*, 86(4), 351-361.
- Jamil, M. K. (2017). Distance-Based Topological Indices and Double Graph. *Iranian Journal of Mathematical Chemistry*, 8(1), 83-91.
- Kırılıngıç, N. (2021). Computing the Forgotten Topological Index for Zero Divisor Graphs of MV-Algebras. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(4), 3072-3085.
- Klavzar, S. ve Gutman, I. (1997). Wiener number of vertex-weighted graphs and a chemical application. *Discrete Applied Mathematics*, 80(1), 73-81.
- Narumi, H. ve Katayama, M. (1984). Simple topological index: a newly devised index characterizing the topological nature of structural isomers of saturated hydrocarbons. *Memoirs of the Faculty of Engineering, Hokkaido University*, 16 (3), 209-214.
- Plavšić, D., Nikolić, S., Trinajstić, N. ve Mihaljčić, Z. (1993). On the Harary index for the characterization of chemical graphs. *Journal of Mathematical Chemistry*, 12, 235-250.

- Randic, M. (1975). On Characterization of molecular branching. *Journal of the American Chemical Society*, 97, 6609-6615.
- Roshini, G. R., Chandrakala, S. B. ve Sooryanarayana, B. (2020). Some Degree Based Topological Indices of Transformation Graphs. *Bulletin of the International Mathematical Virtual Institute*, 10(2), 225-237.
- Singh P., Bhat V.K. (2021). Adjacency matrix and Wiener index of zero divisor graph $\Gamma (Z_n)$, *Journal of Applied Mathematics and Computing*, 66, 717-732.
- Todeschini, R. ve Consonni, V. (2010). New local vertex invariants and molecular descriptors based on functions of the vertex degrees. *MATCH Communications in Mathematical and in Computer Chemistry*, 64, 359-372.
- Vukicevic, D. ve Furtula, B. (2009). Topological index based on the ratios of geometrical and arithmetical means of end-vertex degrees of edges. *Journal of mathematical chemistry*, 46, 1369-1376.
- Wardecki, D, Dołowy, M. ve Bober-Majnuż, K. (2023). Evaluation of the Usefulness of Topological Indices for Predicting Selected Physicochemical Properties of Bioactive Substances with Anti-Androgenic and Hypouricemic Activity. *Molecules*, 28(15), 5822.
- Wiener, H. (1947). Structural determination of paraffin boiling points, *Journal of the American Chemical Society*, 69(1), 17 - 20.
- Wu, B. (2010). Wiener Index of Line Graphs. *MATCH Communications in Mathematical and in Computer Chemistry*, 64, 699-706.
- Wu, B. ve Meng, J. (2001). Basic Properties of Total Transformation Graphs. *Journal of Mathematical Study*, 34 (2), 109-116.

To Cite: Tan Gurkok, T. & Tufekci Derelli, E. (2024). Transcriptional Regulation of Circadian Rhythm System for Developmental Stage in *Cucumis melo* L.: A Bioinformatic Study. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 879-887.

Transcriptional Regulation of Circadian Rhythm System for Developmental Stages in *Cucumis melo* L.: A Bioinformatic Study

Tugba GURKOK TAN^{1*}, Ebru DERELLİ TUFEKÇİ¹

Highlights:

- The circadian rhythm can also be called the biological clock
- Melon is the most important Cucurbitaceae family members
- The relationship between different developmental processes and circadian rhythm in melon is very important

ABSTRACT:

Circadian rhythm is defined biochemical, physiological, metabolic and behavioral responses of all living organisms such as bacteria, mammals, fungi and plants within a 24-hour light and dark photoperiod. In plants, circadian rhythm regulates multiple physiological, metabolic and behavioral processes such as stomatal and leaf movements, stem elongation, enzyme activity and aging. Circadian clock genes are known to play a role in regulating the biosynthesis of phytohormones which are involved in many crucial processes such as seed germination, hypocotyl elongation and photosynthesis. Circadian rhythm regulates and optimizes physiological and molecular mechanisms in a diurnal cycle, anticipating seasonal changes and preparing the plant for different environmental conditions in plant. Circadian rhythm also plays a crucial role in the regulation of plant defense against biotic and abiotic stresses. Melon is a diploid species and one of the most important Cucurbitaceae family members. In this study, we aimed to investigate the relationship between different developmental processes and circadian rhythm in melon. The relationship between circadian rhythm and growth, development and resistance in melon a detailed understanding of the relationship will help to improve future agricultural production and ground for further research on tolerance to environmental stresses will be created.

Keywords:

- Circadian rhythm
- Developmental stage
- Melon
- Bioinformatic

¹Tugba GURKOK TAN ([Orcid ID: 0000-0003-0599-5628](https://orcid.org/0000-0003-0599-5628)), Ebru DERELLİ TUFEKÇİ ([Orcid ID: 0000-0003-1097-8574](https://orcid.org/0000-0003-1097-8574)), Cankırı Karatekin University, Food and Agriculture Vocational School, Department of Field Crops, Cankırı, Türkiye

*Corresponding Author: Tuğba GÜRKÖK TAN, e-mail: t.gurkok@gmail.com

INTRODUCTION

In all living organisms, including plants, it is of great importance to understand how the mechanisms regulating biological processes in the day-night cycle are organized within the complex circadian rhythm network to maintain growth and development. In general, the circadian rhythm is defined as the biochemical, physiological, metabolic and behavioral responses of all living organisms such as bacteria, mammals, fungi and plants within a 24-hour light-dark photoperiod. (Srivastava et al., 2019). The circadian rhythm consists of a molecular network of very complex signaling processes. In living organisms, the timing, synchronization and optimization of events related to the internal and external environment and the rhythmic control of signals are carried out by this complex network of interactions (Nimmo et al., 2020).

Plant circadian clocks have many transcriptional and translational feedback mechanisms (Translational/transcriptional feedback loops-TTFLs) that are conserved among plant species (Srivastava, et al., 2019). In plants, circadian rhythm regulates multiple physiological, metabolic and behavioral processes such as stomatal and leaf movements, stem elongation, enzyme activity and aging (Pelvan et al., 2021). In addition, circadian clock genes are known to play a role in regulating the biosynthesis of phytohormones such as gibberellic acid (GA), jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA) and abscisic acid (ABA), which are involved in many crucial processes such as seed germination, hypocotyl elongation and photosynthesis (Atamian et al., 2016). It is also predicted to have a very important role in the optimum timing of defense responses against abiotic and biotic stresses in plants (Karapetyan & Dong, 2018).

In the central cycle of the circadian rhythm are *circadian clock associated1 (CCA1)*, *late elongated hypocotyl (LHY)*, *timing of cab expression1/pseudo-response regulator1 (TOC1/PRR1)*, which encodes *MYB (myeloblastosis)*-transcription factors and belongs to the *pseudo-response regulator (PRR)* family (Harmer, 2009). The central cycle combines with the day and night cycle to establish the circadian rhythm in plants (Sharma & Bhatt, 2014). Studies have shown that in *CCA1* and *LHY* mutants, circadian rhythm is disrupted, flowering time is affected, light responses are impaired, hypocotyl elongation is altered, phenotype and daily periods of plants are altered (Inoue et al., 2017). *PRR9* contributes to the regulation of hypocotyl growth under photoperiodic conditions. It has also been reported that *PRR7* and *PRR9* genes are important components of the regulation of the circadian system sensitive to temperature changes (Greenham et al., 2020). It has been suggested that *TOC1* is an important link between environmental signals and circadian rhythm, especially for photomorphogenic outputs, and that *TOC1* contributes to carbon fixation and biomass production in plants by shortening the cycle time and affecting the circadian clock period (Perales & Mas, 2007; Fujiwara et al., 2008). *Early flowering 3 (ELF3)* encodes a nuclear protein that is rhythmically expressed and interacts with phytochrome B to control plant growth and flowering. *ELF3* is a crucial component of the nuclear circadian clock, independent of light conditions (Liu, 2001). *Gigantea (GI)* is one of the most important genes involved in circadian rhythm. Photoperiod-mediated flowering, phytochrome B signaling, circadian clock, carbohydrate metabolism and regulates various processes, including the cold stress response (Srivastava et al., 2019). Genes that play a key role in circadian rhythm such as *CCA1*, *TOC1*, *LHY* and *TIC* are known to have a very important role in plant defense mechanisms against biotic and abiotic stresses (Grundy et al., 2015).

The melon (*Cucumis melo* L.) is a diploid species (2n=24) and one of the most important members of the Cucurbitaceae family. The melon is not only of great economic importance, but also has a remarkable content of substances such as vitamins A and C, β -carotenes, phenolic acids and minerals as well as folic acid, which are very important for nutrition and human health. (Garcia-Mas et al., 2012).

World melon production is estimated at approximately 27.3 million tons from 1.04 million hectares (<http://faostat3.fao.org>). The melon fruits can be climacteric or nonclimacteric due to their respiration (Périn et al., 2002). The climacteric stage is the last step of physiological stage that signs the starting of fruit ripening. During this stage several changes occur in the fruit (Osorio et al., 2013). In the present study, we aimed to investigate the relationship between different developmental processes and circadian rhythm in melon by bioinformatic tools. The relationship between circadian rhythm and growth and development in melon a detailed understanding of the relationship will help to improve future agricultural production and ground for further research on tolerance to environmental stresses will be created.

MATERIALS AND METHODS

Data Retrieval

RNA-seq transcriptome libraries were downloaded from National Center for Biotechnology Information (NCBI) Sequence Read Archive (SRA) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>). The libraries are belonged to fruit climacteric (C), growing (G), post-climacteric (P) and ripening (R) stages (PRJNA543288) (Tian et al., 2019).

Analysis of Circadian Rhythm System gene expressions from RNA-Seq libraries

After sequence quality control, each of the library RNA-Seq reads was mapped to the *C. melo* genome downloaded from Genome ENSEMBL database (https://plants.ensembl.org/Cucumis_melo/Info/Indexusing). To calculate FPKMs (fragments per kilobase of transcript per million mapped) of transcripts Cuffdiff was used (Mortazavi et al., 2008). The transcripts with p value ≤ 0.05 and the \log_2 fold change with ≥ 1.5 and ≤ -1.5 were identified as differentially expressed between groups. The annotation of the transcripts performed with ANNOVAR software (Wang et al., 2010).

Gene enrichment analysis

The analysis of the gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) was performed with the software Blast2GO (Conesa & Götz, 2008). The sequences were uploaded to Blast2GO in FASTA format. The genes with a p -value of less than 0.05 were considered significant and assigned to the GO categories cellular components, molecular function, and biological process.

RESULTS AND DISCUSSION

It is known that plants have internal biological clocks that allow them to predict environmental changes over time and adapt to daily or seasonally changing environmental conditions. The circadian clock genes have crucial functions in plants such as metabolism control, hormone signalling growth and development (Farré & Weise, 2012). Hence, as in other organisms, plants circadian clock genes consists of multiple transcriptional/translational mechanisms (Inoue et al., 2018).

Identification of Circadian Rhythm Related DEGs in Different Developmental Stages

In this study, we identified the DEGs and their potential functions existing in circadian rhythm pathway in different developmental stages of *C. melo*. The DEseq package was applied for DEG analysis. The absolute \log_2 based values were determined.

We compared the growth stages with the maturation stage and identified four DEGs, three of which were downregulated. Among them, *MELO3C010015.2* (*Flowering Locus T*) showed the lowest expression level. The comparison between growth and climacteric stages revealed seven genes, six of which were upregulated. The highest number of DEGs were found in the comparison between growing and post climacteric developmental stages. Among eight genes 50% of them was demonstrated up-

regulation. From this point of view, we can say that the number of DEGs associated with circadian rhythm denotes increasing from growing stage to post climacteric stage. Also, we performed comparison analysis to find out the DEGs between ripening vs climacteric and ripening vs post climacteric stages. We detected three and two DEGs, respectively. Interestingly no significant DEGs associated with circadian rhythm were found between climacteric and post climacteric stages (Table 1).

Table 1. Differentially expressed circadian rhythm genes at different developmental stages in melon (Fold changes are given in log₂-based numbers)

| Gene name | Developmental stages | | | | | Description |
|-----------------------|----------------------|------|-------|------|------|---|
| | GR | GC | GP | RC | RP | |
| <i>MELO3C010015.2</i> | -6.9 | 12.2 | -12.2 | -5.3 | -5.3 | Protein Flowering Locus T (FT) |
| <i>MELO3C014767.2</i> | -3.8 | 4.2 | -4.5 | // | // | Chalcone synthase 2 (CHS) |
| <i>MELO3C016660.2</i> | 1.6 | // | 1.7 | // | // | Adagio protein 1/clock-associated PAS protein (ZTL) |
| <i>MELO3C017961.2</i> | -1.6 | 2.3 | -2.5 | // | // | Phytochrome A-associated F-box protein (PHYA) |
| <i>MELO3C011754.2</i> | // | 2 | // | // | // | Transcription factor TCP7-like (CHE) |
| <i>MELO3C025894.2</i> | // | 1.5 | -1.5 | // | // | Phytoclock 1 (PCL1/LUX) |
| <i>MELO3C030034.2</i> | // | -2.1 | 2.8 | 2 | 2.6 | Protein GIGANTEA (GI) |
| <i>MELO3C031303.2</i> | // | 1.5 | // | -1.6 | // | Phytochrome-Interacting Factor 3 (PIF3) |
| <i>MELO3C005840.2</i> | // | // | 1.5 | // | // | Protein REVEILLE (RVE) |
| <i>MELO3C020611.2</i> | // | // | 1.8 | // | // | Phytoclock 1 (PCL1/LUX) |

(GR: Growing vs Ripening; GC: Growing vs Climacteric; GP: Growing vs Post-climacteric; RC: Ripening vs Climacteric; RP: Ripening vs Post-climacteric)

Among all the detected DEGs, *MELO3C010015.2* (*FLOWERING LOCUS T*) was found to exist in all comparisons. It showed a remarkable difference in expression between developmental stages. Namely, its expression decreased in all comparisons except growing vs climacteric stages. It is known that the flowering integrator gene, *FT*, activates the "florigen" that activates flowering genes and enables the transition to the flowering stage (Kazan & Lyons, 2016). It functions in both the vernalization and photoperiod pathways (Seymour et al., 1993; Takada & Goto, 2003). Some studies have shown that this gene might have a role in fruit ripening. In apple, which is also a climacteric plant, *FT* might be involved in fruit development (Mimida et al., 2011). The *PHYA* gene is expressed rhythmically to control plant growth and flowering, and in a study in grapes it was reported to be prominent during the climacteric period (Chervin et al., 2004).

In addition, some of the genes were unique within the comparisons. *MELO3C011754.2* was detected only in growing vs climacteric whereas *MELO3C005840.2* and *MELO3C020611.2* in growing vs post climacteric. All three genes displayed decreased expression patterns according to growing stage. It can be thought that these genes suppression may have a role in circadian rhythm regulation.

In total we have found 24 DEGs within comparisons. The number of up-regulated transcripts was 13 while down-regulated ones was 11. Figure 1a shows circadian rhythm responsive DEGs that were up-regulated among comparisons. Six of the transcripts existed in growing vs climacteric. *MELO3C030034.2* (*GIGANTEA-GI*) was determined in three comparisons. *GI* expression is functionally diverse in plant development; it has been observed to be involved in physiological processes; regulation of flowering time, light signalling, hypocotyl elongation, circadian rhythm control, sucrose signalling, starch accumulation, chlorophyll accumulation, transpiration, biotic and abiotic stress herbicide tolerance (Mishra & Panigrahi, 2015). The expression pattern analysis of down-regulated DEGs were shown in Figure 1b. 36% of the DEGs were detected in growing vs post climacteric.

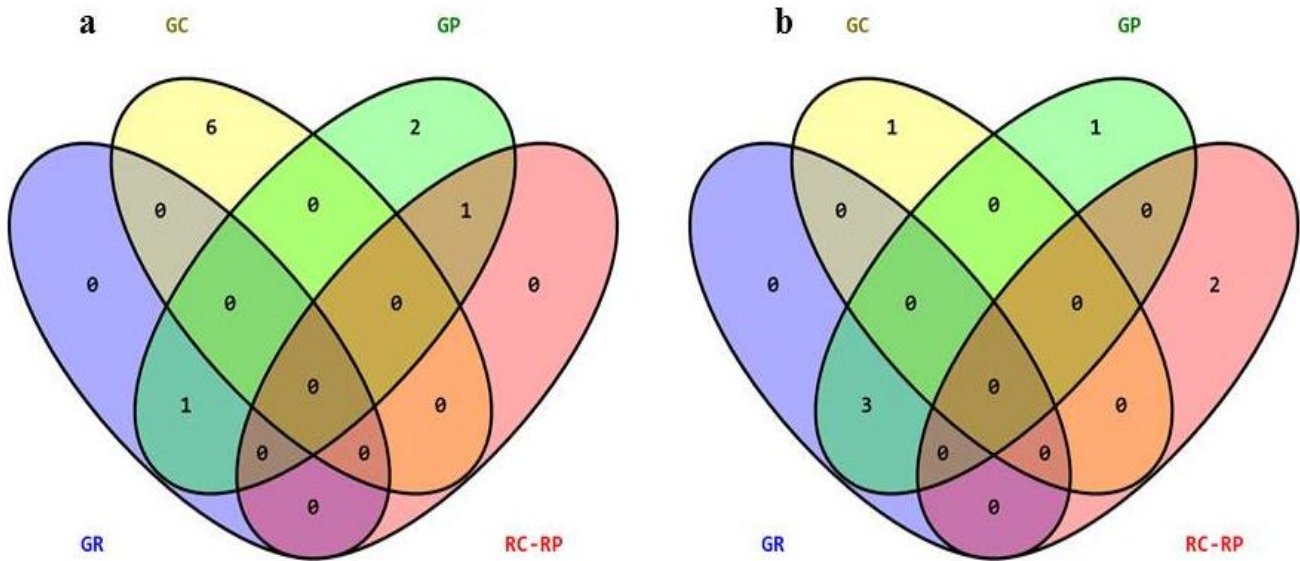


Figure 1. Venn diagrams showing the number of differentially expressed transcripts among developmental stages for up-regulated (a) and Venn diagrams showing the number of differentially expressed transcripts among developmental stages for down-regulated (b)

GO Enrichment Analysis of DEGs

To elucidate the potential role of DEGs at different developmental stages, we performed GO enrichment analysis and classified them as cellular component, molecular function, and biological process. As expected, the highest number of GO term was determined in growing vs post climacteric stages since it consist of the largest number of DEGs. Following the analysis of DEGs, we investigated that in cellular component these genes could mainly be in membrane-bounded organelle, organelle and intracellular (Figure 2). Transferase complex and vacuole terms were not existed in ripening vs climacteric or ripening vs post climacteric stages. Following the GO enrichment analysis in the molecular function category we investigated that the most of DEGs were involved in binding, DNA binding and transferase activity (Figure 3). Functional prediction of biological processes revealed that majority of the DEGs could be involved in biological regulation, metabolic process, response to stimulus and development (Figure 4). Moreover, analysis pointed out that GO terms varied at different stages of development. Except ripening vs post climacteric stages, in all comparisons Biological Regulation and Metabolic Process displayed the highest number, respectively.

The metabolic pathways in which DEG transcripts function were investigated using the KEGG database, the most comprehensive metabolic pathway database available. KEGG pathway enrichment analyses suggest that the transcripts especially developmental genes such as *FT*, *PIF3*, *PHY*, *GI*, *CHS*, *CHE* were involved in circadian rhythm (Figure 5).

Cellular Component

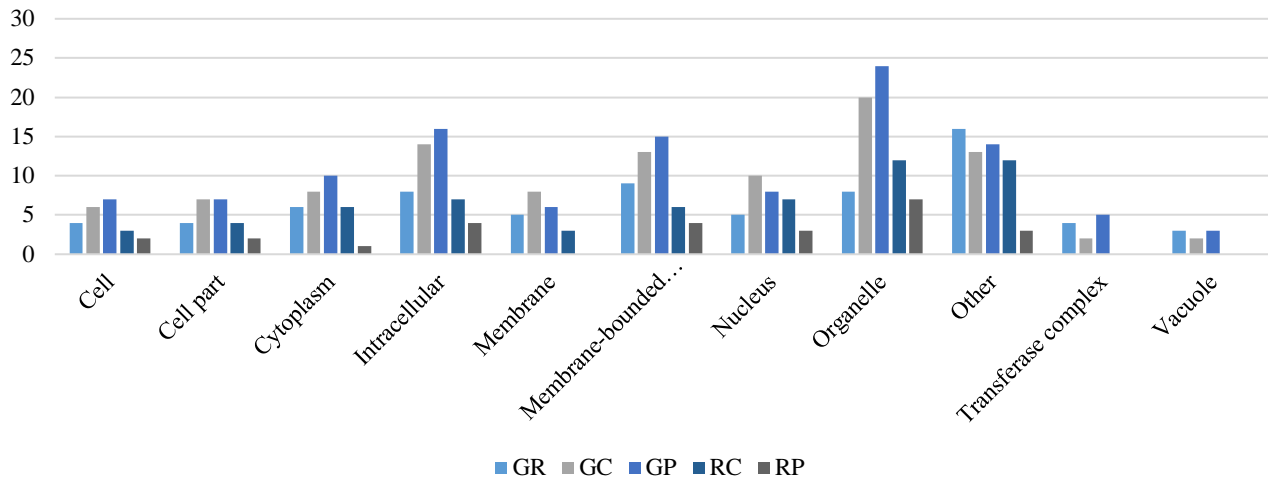


Figure 2. Gene ontology (GO) categories of annotated differentially expressed transcripts for a cellular components

Molecular Function

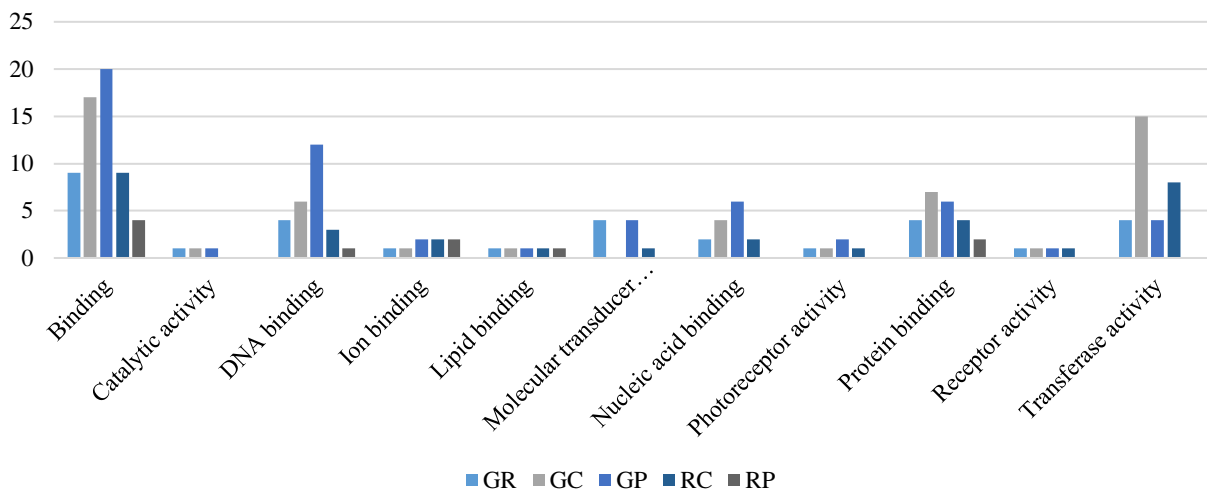


Figure 3. Gene ontology (GO) categories of annotated differentially expressed transcripts for a molecular function

Biological Process

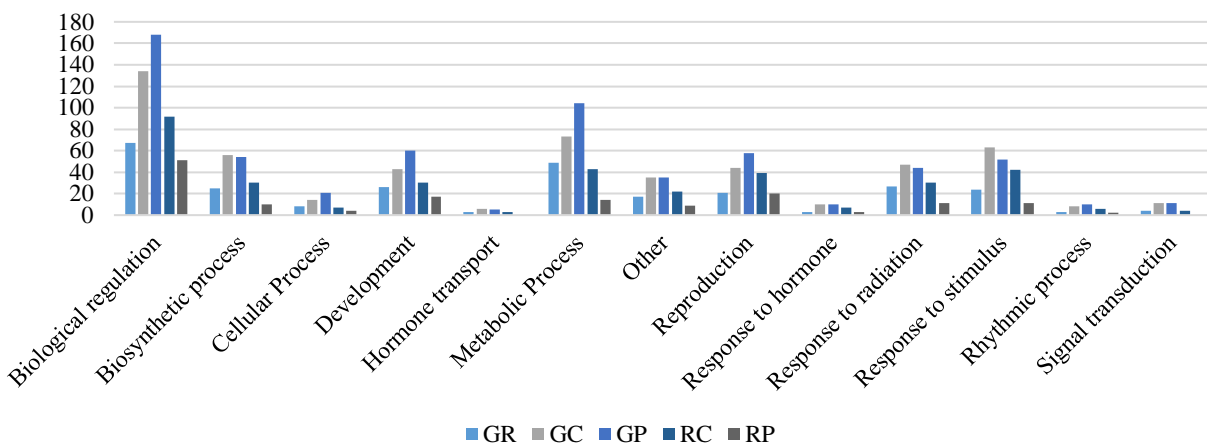


Figure 4. Gene ontology (GO) categories of annotated differentially expressed transcripts for a biological process

CIRCADIAN RHYTHM - PLANT

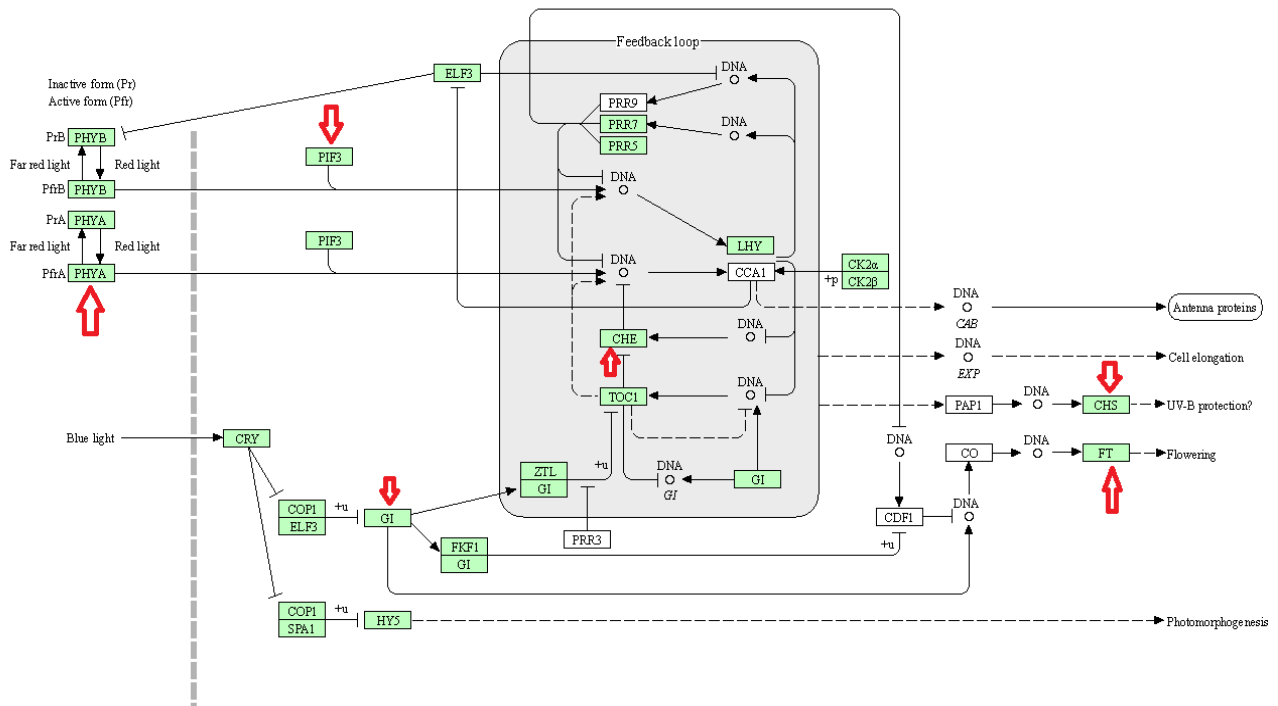


Figure 5. Circadian rhythm KEGG map (Differentially expressed circadian rhythm genes are marked with a red arrow)

CONCLUSION

Cells and organisms respond to the times of the day according to their circadian rhythm, which enables cell regeneration and the secretion of hormones, as well as control over events such as photosynthesis and flowering in plants. In this study, we investigated the relationship between different developmental processes and circadian rhythm in melon using bioinformatics tools. A detailed understanding of the relationship between circadian rhythm and growth and development in melon will help improve future agricultural production and lay the groundwork for further research on tolerance to environmental stresses.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Atamian, H. S., Creux, N. M., Brown, E. A., Garner, A. G., Blackman, B. K. & Harmer, S. L. (2016). Circadian regulation of sunflower heliotropism, floral orientation, and pollinator visits. *Science*, 353(6299), 587-590.
- Chervin, C., El-Kereamy, A., Roustan, J. P., Latché, A., Lamon, J. & Bouzayen, M. (2004). Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape, a non-climacteric fruit. *Plant Science*, 167(6), 1301-1305.
- Conesa, A., Gotz, S., Garcia-Gomez, J. M., Terol, J., Talon, M. & Robles, M. (2005). Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21(18), 3674-3676.

- Farré, E. M., & Weise, S. E. (2012). The interactions between the circadian clock and primary metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(3), 293-300.
- Fujiwara, S., Wang, L., Han, L., Suh, S. S., Salomé, P. A., McClung, C. R. & Somers, D. E. (2008). Post-translational regulation of the Arabidopsis circadian clock through selective proteolysis and phosphorylation of pseudoresponse regulator proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 283(34), 1-11.
- Garcia-Mas, J., Benjak, A., Sanseverino, W., Bourgeois, M., Mir, G., González, V. M., Hénaff, E., Câmara, F., Cozzuto, L., Lowy, E., Alioto, T., CapellaGutiérrez, S., Blanca, J., Cañizares, J., Ziarsolo, P., Gonzalez-Ibeas, D., Rodríguez-Moreno, L., Droege, M., Du, L., Alvarez-Tejado, M., LorenteGaldos B, Melé M, Yang L, Weng Y, Navarro A, Marques-Bonet T, Aranda MA, Nuez, F., Picó, B., Gabaldón, T., Roma, G., Guigó, R., Casacuberta, J. M., Arús, P. & Puigdomènech, P. (2012). The genome of melon (*Cucumis melo* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(29), 11872-11877.
- Greenham, K., Sartor, R. C., Zorich, S., Lou, P., Mockler, T. C. & McClung, C. R. (2020). Expansion of the circadian transcriptome in *Brassica rapa* and genome-wide diversification of paralog expression patterns. *eLife* <https://elifesciences.org/articles/58993>.
- Grundy, J., Stoker, C. & Carré, I. A. (2015). Circadian regulation of abiotic stress tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6(648), 1-15.
- Harmer, S. L. (2009). The circadian system in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*, 60(1), 357-377.
- Inoue, K., Araki, T. & Endo, M. (2017). Integration of input signals into the gene network in the plant circadian clock. *Plant Cell Physiology*, 58, 977-982.
- Karapetyan, S. & Dong, X. (2018). Redox and the circadian clock in plant immunity: A balancing act. *Free Radical Biology and Medicine*, 119, 56-61.
- Kazan, K. & Rebecca, L. (2016). The Link between Flowering Time and Stress Tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 67(1), 47-60.
- Liu, X. (2001). ELF3 encodes a circadian clock-regulated nuclear protein that functions in an Arabidopsis PHYB signal transduction pathway. *The Plant Cell Online*, 13(6), 1293-1304.
- Mimida, N., Kidou, S. I., Iwanami, H., Moriya, S., Abe, K., Voogd, C., Varkonyi Gasic, E. & Kotoda, N. (2011). Apple FLOWERING LOCUS T proteins interact with transcription factors implicated in cell growth and organ development. *Tree physiology*, 31(5), 555-566
- Mishra, P. & Panigrahi, K. C. (2015). GIGANTEA - an Emerging Story. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-15.
- Mortazavi, A., Williams, B. A., McCue, K., Schaeffer, L. & Wold, B. (2008). Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature Methods*, 5(7), 621-628.
- Nimmo, H. G., Laird, J., Bindbeutel, R. & Nusinow, D. A. (2020). The evening complex is central to the difference between the circadian clocks of Arabidopsis thaliana shoots and roots. *Physiologia Plantarum*, 169(3), 442-451.
- Osorio, S., Scossa, F. & Fernie, A. R. (2013). Molecular regulation of fruit ripening. *Frontiers in Plant Science*, 4, 198.
- Pelvan, A., Bor, M., Yolcu, S., Özdemir, F. & Türkan, I. (2021). Day and night fluctuations in GABA biosynthesis contribute to drought responses in *Nicotiana tabacum* L. *Plant Signaling & Behavior*, 16(5), 1-9.

- Perales, M. & Más, Paloma. (2007). A functional link between rhythmic changes in chromatin structure and the Arabidopsis biological clock. *The Plant Cell*, 19(7), 211-2123.
- Périn, C., Gomez-Jimenez, M., Hagen, L., Dogimont, C., Pech, J. C., Latche, A., Pitrat, M. & Lelievre, J. M. (2002). Molecular and genetic characterization of a nonclimacteric phenotype in melon reveals two loci conferring altered ethylene response in fruit. *Plant Physiology*, 129, 300-309.
- Seymour, G., Taylor, J. E. & Tucker, G. A. (1993). Introduction. *Biochemistry of Fruit Ripening*. Chapman & Hall, 1-51, London.
- Sharma, M. & Bhatt, D. (2014). The circadian clock and defence signalling in plants. *Molecular Plant Pathology*, 16(2), 210-218.
- Srivastava, D., Shamim, M., Kumar, M., Mishra, A., Maurya, R., Sharma, D., Pandey, P. & Singh, K. N. (2019). Role of circadian rhythm in plant system: An update from development to stress response. *Environmental and Experimental Botany*, 162(2019), 256-271.
- Takada, S. & Goto, K. 2003. Terminal flower 2, an Arabidopsis homolog of heterochromatin protein1, counteracts the activation of flowering locus t by constans in the vascular tissues of leaves to regulate flowering time. *Plant Cell*, 15, 2856-2865.
- Tian, Y., Bai, S. L. G., Dang, Z. H., Hao, J. F., Zhang, J. & Hasi, A. (2019). Genome-wide identification and characterization of long non-coding RNAs involved in fruit ripening and the climacteric in *Cucumis melo*. *BMC Plant Biology*, 19(369), 1-15.
- Wang, K., Li, M., & Hakonarson, H. (2010). ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 38(16), e164-e164.

Atf İçin: Aslan, E.S., Abuaisha, A., Emiroğlu, S., Doğan, M.A. (2024). Meme Kanseri Hastalarda Anti-Nükleer Antikorlar ve Anti-Çekilebilir Nükleer Antijen Seviyelerinin Değerlendirilmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 888-893.

To Cite: Aslan, E.S., Abuaisha, A., Emiroğlu, S. & Doğan, M.A. (2024). Assessment of Anti-Nuclear Antibodies and Anti-Extractable Nuclear Antigen Levels in Breast Cancer Patients. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 888-893.

Assessment of Anti-Nuclear Antibodies and Anti-Extractable Nuclear Antigen Levels in Breast Cancer Patients

Elif Sibel ASLAN¹, Asmaa ABUAISHA², Selman EMİROĞLU³, Mehmet Ali DOĞAN⁴

Öne Çıkanlar:

- Lümenal meme kanseri hastalarında ANA'ların yaygınlığı
- Tümör alt tiplerinde anti-nükleer antikorların farklı konsantrasyonları
- Otoantikör seviyeleri ile klinik özellikler arasındaki ilişki.

Anahtar Kelimeler:

- Anti-nükleer antikorlar (ANAs)
- Otoantikörler
- Meme Kanseri
- Anti-Çekilebilir Nükleer Antijenler (ENAs)

ÖZET:

Anti-nükleer antikorlar (ANAs), hücre çekirdek içeriğine karşı üretilen otoantikörlerdir ve sistemik otoimmün hastalıkların biyobelirteçleri olarak kullanılırlar. İnflamasyon, apoptoz ve hücre nekrozu, meme kanseri ile ilişkili olarak ortaya çıkan hücrel sonuçlardır ve bu duruma karşı otoantikörler üretilebilir. Bu çalışmada, meme kanserinde ANA'ların ve anti-ekstrakte edilebilir nükleer antijenlerin (anti-ENAs) varlığını değerlendirmeyi amaçladık. Toplam 33 lümenal A ve lümenal B meme kanseri hastası, ANA'ların ve anti-ENAs'ın varlığı açısından değerlendirildi. Tüm hastalar, testlerden en az 6 ay önce hormon terapisi almışlardır. Hastalar, insan epitel tip 2 (HEp-2) hücrelerinde indirekt immünoflorasansa ANA'lar için taranmıştır. U1-snRNP, snRNP/Sm, Smd1, dsDNA, SS-A/Ro 60, SS-A/Ro 52, SS-B/La antikor konsantrasyonlarını belirlemek için AESKUBLOTS® ANA-17 comp kiti kullanıldı. Onbeş hastanın (%45.5) lümenal A ve 18 hastanın (%54.5) lümenal B olduğu belirlendi. Ortalama yaş 57, tümör boyutu ise 25 tir. Hastaların %57.6'sında I veya II derece, %42.4'ünde III derece tümör vardı ve üç hasta ANA testi pozitif. Pozitif ANA testi olan tüm hastalar lümenal A meme kanseriydi ve I veya II derece tümöre sahip olup pozitif lenf noduna sahipti; ancak patolojik tümör evresi değişkenlik gösteriyordu. ANA pozitifliği ile moleküler alt tip, yaş, vücut kitle indeksi (VKİ), derece, tümör evresi veya lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ayrıca, anti-U1-snRNP ve anti-dsDNA'nın Ki-67 ile negatif, anti-snRNP/Sm ve anti-SS-A/Ro 52'nin ise pozitif bir korelasyonu bulunmuştur. Lümenal A ile karşılaştırıldığında, anti-U1-snRNP ve anti-snRNP/Sm konsantrasyonları lümenal B tümörlerinde istatistiksel olarak önemli ölçüde düşük bulunmuştur (sırasıyla p= 0.015 ve 0.016). Yüksek dereceli tümöre sahip hastalar, düşük anti-snRNP/Sm konsantrasyonları gösterirken, lenf nodu metastazına sahip olanlar yüksek anti-U1-snRNP konsantrasyonları sergilemiştir (sırasıyla p=0.027 ve 0.031). ANA pozitifliği, lümenal A meme kanseri hastalarında lümenal B'ye kıyasla daha yaygın bulunmuştur. Anti-U1-snRNP ve anti-snRNP/Sm konsantrasyonları lümenal B'de daha düşüktür. Ayrıca, yüksek dereceli tümöre sahip hastalar düşük anti-snRNP/Sm konsantrasyonları gösterirken, lenf nodu metastazı olanlar yüksek anti-U1-snRNP konsantrasyonları sergilemiştir.

Assessment of Anti-Nuclear Antibodies and Anti-Extractable Nuclear Antigen Levels in Breast Cancer Patients

Highlights:

- Prevalence of ANAs in Luminal Breast Cancer Patients
- Differential Concentrations of Anti-nuclear Antibodies in Tumor Subtypes
- Association between Autoantibody Levels and Clinical Characteristics.

Keywords:

- Anti-nuclear antibodies (ANAs)
- Autoantibodies
- Breast Cancer
- Anti-Extractable Nuclear Antigens (ENAs).

ABSTRACT:

Anti-nuclear antibodies (ANAs) are autoantibodies synthesized in response to the cell nucleus contents and use as biomarkers of systemic autoimmune diseases. Inflammation, apoptosis and necrosis of the cells are consequences that accompany breast cancer against which autoantibodies will be produced. In this study, we aimed to evaluate the presence of ANAs and anti-extractable nuclear antigens (anti-ENAs) in breast cancer. A total of 33 luminal A and luminal B breast cancer patients were assessed for presence of ANAs and anti-ENAs. All the patients had received hormone therapy at least for 6 months before the tests. Patients were screened to ANAs by indirect immunofluorescence on human epithelial type 2 (HEp-2) cells. AESKUBLOTS® ANA-17 comp kit was used to identify the concentrations of U1-snRNP, snRNP/Sm, Smd1, dsDNA, SS-A/Ro 60, SS-A/Ro 52, SS-B/La antibodies. Fifteen (45.5%) patients were luminal A and 18 (54.5%) patients were luminal B. The median of age was 57 and the median of tumor size was 25. 19 (57.6%) patients had grade I or II and 14 (42.4%) had grade III. 3 patients had ANAs test positive. All the patients who had positive ANA test were luminal A breast cancer and had grade I or II tumors and positive lymph node, whereas, pathological tumor stage were varied. No statistically significant association was found between ANAs positivity and molecular subtype, age, body mass index (BMI), grade, tumor stage or lymph node involvement. Moreover, there were negative correlations between the anti-U1-snRNP and anti-dsDNA with Ki-67 and a correlation between anti-snRNP/Sm and anti-SS-A/Ro 52 was found. Comparing with luminal A, anti-U1-snRNP and anti-snRNP/Sm concentrations were statistically significantly lower in luminal B tumors (p= 0.015 and 0.016 respectively). Patients who had high grade tumors showed low concentrations of anti-snRNP/Sm (p=0.027), whereas patients who had lymph node metastasis showed high concentrations of anti-U1-snRNP (p=0.031). ANAs positivity was more common in luminal A breast cancer patients compared with luminal B. Anti-U1-snRNP and anti-snRNP/Sm concentrations were lower in luminal B. Moreover, patients who had high grade tumors showed low concentrations of anti-snRNP/Sm, whereas those who had lymph node metastasis showed high concentrations of anti-U1-snRNP.

¹ Elif Sibel ASLAN (Orcid ID: 0000-0002-3081-9004), Department of Molecular Biology and Genetics, Biruni University, Istanbul, Türkiye

² Asmaa ABUAISHA (Orcid ID: 0000-0003-2869-6620), Department of Genetics, Institute of Health Sciences, Istanbul University, Istanbul, Türkiye

³ Selman Emiroğlu (Orcid ID: 0000-0001-9333-6926), Breast Surgery Division, General Surgery Department, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Türkiye

⁴ Mehmet Ali Doğan. (Orcid ID: 0000-0003-3324-3028), Department of Immunology and Medical Microbiology, Basic Medical Sciences, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Türkiye

*Corresponding Author: Elif Sibel ASLAN, e-mail: easlan@biruni.edu.tr

Ethics Committee Approval: This study has been approved by Ethical committee of Istanbul University's Istanbul Faculty of Medicine (file no. 2023/195).

INTRODUCTION

Anti-nuclear antibodies (ANAs) are autoantibodies synthesized in response to the macromolecular components (DNA, RNA, protein and complexes of them) of the cell nucleus. As a result to apoptosis or cell necrosis, cells contents appear in the blood to which ANAs may be synthesized (Ling and Murali, 2019). ANAs is used as biomarkers of systemic autoimmune diseases and it may represent a pre-autoimmunity state such in systemic lupus or rheumatoid arthritis (Choi and Costenbader, 2022). Not only in the autoimmune diseases, but ANAs may also be a marker of some other diseases (Choi and Costenbader, 2022). A positive ANAs can be seen in different infections and malignancies including lung, breast, head and neck cancer (Admou B., et al. 2019; Morimoto, K. et al. 2019; Otsuka T. et al. 2019; Fernández Madrid, F., 2015). Different studies have showed that cancers may trigger the production of autoantibodies that may be used for early diagnosis (Turgutalp, K. et al. 2013; Sexauer, and Gray 2022; Lacombe, J. et al. 2014). Other studies showed that autoantibodies have role in angiogenesis and cancer prognosis (Lacombe, J. et al. 2014; Liu, B.C., et al. 2012) and might be used as targets for cancer drugs (Hong, C. Q. et al. 2021).

Moreover, ANAs may be helpful during the early diagnosis of breast cancer. Inflammation and cell necrosis are consequences that accompany breast cancer. Tumor cell death is a source of antigen stimulation that leads to ANAs production in cancers. Although, it may represent an immune response to stop tumor spreading (Chapman, C., et al. 2007). Nisihara et al. 2018 investigated the prevalence of ANAs in breast cancer patients and showed its association with tumor characteristics. 91 healthy individuals, 72 patients had malignant lesions and 19 patients had benign lesions were included in their study. 44.4% of the patients with malignant tumors and 15.7% of those with benign lesions and 5.4% of the controls had positive ANAs. They showed that there was a high prevalence of ANAs positivity in breast cancer patients with a negative association with hormonal receptor positivity. In addition, (Mohammed et al. 2015), investigated the concentration of ANAs and anti-dsDNA in 35 newly diagnosed breast cancer patients and compared to 18 age- and sex-matched control subjects. They reported that ANAs concentration was significantly high in breast cancer patients, whereas anti-dsDNA was not.

In this study, we aimed to evaluate ANA concentrations and the concentration of U1-snRNP, snRNP/Sm, SmD1, dsDNA, SS-A/Ro 60, SS-A/Ro 52, SS-B/La in Luminal subtypes of breast cancer patients.

MATERIALS AND METHODS

This study has been approved by Ethical committee of Istanbul University's Faculty of Medicine (file no. 2023/195). All patients were informed about the study's purpose, content, and intervention, and their oral and written consent was obtained. A total of 33 luminal subtypes of breast cancer were evaluated for the clinicopathological characteristics and for the presence of ANAs and anti-extractable nuclear antigens (ENAs) (anti-U1-snRNP, anti-snRNP/Sm, anti-SmD1, anti-dsDNA, anti-SS-A/Ro60, anti-SS-A/Ro52 and anti-SS-B/La). All the patients had received hormone therapy at least for 6 months before the tests. Two (2) mL of venous blood were drawn and serum samples were preserved for ANAs and anti-ENAs panel tests. All the samples were investigated for ANAs by indirect immunofluorescence on human epithelial type 2 (HEp-2) cells, using the commercially available kit ANA HEp-2 (AESKUSLIDES-ANA-HEp-2, Germany), as recommended by the manufacturer. A titre of 1:80 or higher was considered to indicate positive result. AESKUBLOTS®ANA-17comp kit was used to evaluate anti-ENAs. ANA-17comp is a membrane based enzyme immunoassay for qualitative detection of IgG antibodies against nuclear and cytoplasmic antigens in human serum. For instance, SS-A/Ro and

SS-B/La antibodies are associated with the sjogren's (Sjögren's) syndrome (SS) and anti-dsDNA, anti-SM, anti-histone and anti-nucleosomes are associated with Systemic Lupus, Erythematosus systemic lupus erythematosus (SLE). Anti-RNP antibodies with mixed connective tissue diseases (MCTD) and SLE with mixed connective tissue diseases (MCTD) and SLE.

RESULTS AND DISCUSSION

Patients and Tumor General Characteristics

Thirty-three luminal A and luminal B breast cancer patients were included in this study. The median of age was 57 and the median of body mass index (BMI) was 29. Fifteen (45.5%) patients were luminal A and eighteen (54.5%) patients were luminal B. The median of Ki-67 was twenty (20%) and the median of tumor size was twenty five mm. Nineteen (57.6%) patients had grade I or II and fourteen (42.4%) had grade III. Nine (27.3%) patients had pathological tumor stage I and twenty four (72.7%) had stage II or III. Lymph node positivity were observed in seventeen (51.5) patients (Table 2 and Table 3).

ANAs Positivity in Patients According to the Clinicopathological Characteristics

Three patients had ANAs positive. All the patients who had a positive ANAs were luminal A and had grade I or II tumors with lymph node metastasis, whereas, pathological tumor stage were varied in those patients. No statistically significant association was found between ANAs positivity and molecular subtype, age, BMI, grade, tumor stage or lymph node involvement (Table 1).

Table 1. ANA positivity rates in patients according to clinicopathological characteristics

| Variables | ANA | | p-Value ^a |
|--------------------------------|---------------|-----------------|----------------------|
| | Positive | Negative | |
| All, n(%) | 3(9.1) | 30(90.9) | |
| Age, n(%) | | | 0.999 |
| <60 | 2(10) | 18(90) | |
| ≥60 | 1(7.7) | 12(92.3) | |
| BMI, n(%) | | | 0.999 |
| <30 | 2(11.1) | 16(88.9) | |
| ≥30 | 1(6.7) | 14(93.3) | |
| Grade, n(%) | | | 0.244 |
| I-II | 3(15.8) | 16(84.2) | |
| III | 0(0) | 14(100) | |
| pT stage, n(%) | | | 0.999 |
| I | 1(11.1) | 8(88.9) | |
| II-III | 2(8.3) | 22(91.7) | |
| pN involvement, n(%) | | | 0.227 |
| N(-) | 0(0) | 16(100) | |
| N(+) | 3(17.6) | 14(82.4) | |
| Molecular subtype, n(%) | | | 0.083 |
| Luminal A | 3(20) | 12(80) | |
| Luminal B | 0(0) | 18(100) | |

p>0.05, Fisher's Exact Test. **BMI**: body mass index, **pT stage**: pathological tumor stage. **pN**: Pathological lymph node

Comparison Between Different Variables of Patients

There was no correlation between the different variables of the patients during these comparisons, whereas, there was a negative correlation between the anti-U1-snRNP and anti-dsDNA with Ki-67. Additionally, there was a correlation between anti-snRNP/Sm and anti-SS-A/Ro 52 concentrations (Table 2).

Table 2. Median, interquartile range(IQR) and Correlations

| No. | Variables | Median(IQR) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-----|-----------------|-----------------|----------------|----------------|--------|--------|-------|---------------|--------|-------|-------|-------|
| 1 | Age (year) | 57(46.50-65.5) | NA | | | | | | | | | |
| 2 | Ki-67 (%) | 20(10-30) | -0.272 | | | | | | | | | |
| 3 | Tumor size (mm) | 25(18-37.5) | -0.154 | 0.247 | | | | | | | | |
| 4 | BMI | 29.1(25.6-32.6) | 0.592** | -0.114 | -0.048 | | | | | | | |
| 5 | U1-snRNP | 0.30(0.15-0.40) | 0.022 | -0.380* | -0.099 | 0.067 | | | | | | |
| 6 | snRNP/Sm | 0.30(0.10-0.50) | -0.056 | -0.229 | -0.169 | -0.186 | 0.085 | | | | | |
| 7 | SmD1 | 0.30(0.20-0.50) | 0.028 | -0.282 | -0.052 | -0.102 | 0.127 | 0.243 | | | | |
| 8 | dsDNA | 0.40(0.20-0.50) | 0.091 | -0.434* | -0.095 | 0.020 | 0.329 | -0.081 | -0.024 | | | |
| 9 | SS-A/Ro 60 | 0.30(0.20-0.45) | 0.117 | -0.123 | -0.017 | 0.279 | 0.018 | -0.051 | 0.278 | 0.042 | | |
| 10 | SS-A/Ro 52 | 0.40(0.20-0.40) | 0.192 | -0.111 | 0.194 | 0.145 | 0.059 | 0.363* | 0.106 | 0.048 | 0.222 | |
| 11 | SS-B/La | 0.30(0.20-0.45) | 0.022 | 0.144 | -0.216 | 0.062 | 0.048 | 0.335 | 0.023 | 0.132 | 0.183 | 0.319 |

**p<0.01, *p<0.05, Spearman's correlation test, NA:Not available

ENAs Panel According to Tumor Characteristics

Table 3. ENA panel according to tumor characteristics

| Variables | All | U1-snRNP | snRNP/Sm | SmD1 | dsDNA | SS-A/Ro 60 | SS-A/Ro 52 | SS-B/La |
|----------------------------|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | n(%) | Median(IQ R) | Median(IQ R) | Median(IQ R) | Median(IQ R) | Median(IQ R) | Median(IQ R) | Median(IQ R) |
| Grade | | | | | | | | |
| I-II | 19(57.6) | 0.30(0.20-0.50) | 0.40(0.30-0.70) | 0.40(0.20-0.60) | 0.40(0.20-0.50) | 0.30(0.20-0.40) | 0.30(0.20-0.40) | 0.30(0.20-0.50) |
| III | 14(42.4) | 0.25(0.10-0.40) | 0.20(0.10-0.33) | 0.25(0.10-0.43) | 0.30(0.10-0.50) | 0.30(0.20-0.50) | 0.40(0.30-0.43) | 0.30(0.18-0.43) |
| p-Value^a | | 0.426 | 0.027* | 0.055 | 0.311 | 0.467 | 0.401 | 0.698 |
| pT stage | | | | | | | | |
| I | 9(27.3) | 0.40(0.20-0.45) | 0.30(0.15-0.50) | 0.30(0.15-0.40) | 0.50(0.30-0.50) | 0.30(0.20-0.35) | 0.30(0.15-0.40) | 0.30(0.20-0.60) |
| II-III | 24(72.7) | 0.25(0.10-0.38) | 0.30(0.10-0.65) | 0.35(0.20-0.68) | 0.40(0.20-0.50) | 0.30(0.20-0.50) | 0.40(0.30-0.48) | 0.30(0.13-0.40) |
| p-Value^a | | 0.242 | 0.743 | 0.390 | 0.437 | 0.301 | 0.165 | 0.400 |
| pN stage | | | | | | | | |
| N(-) | 16(48.5) | 0.20(0.10-0.30) | 0.30(0.20-0.65) | 0.25(0.10-0.40) | 0.30(0.20-0.48) | 0.35(0.30-0.50) | 0.40(0.30-0.48) | 0.30(0.20-0.48) |
| N(+) | 17(51.5) | 0.30(0.20-0.50) | 0.30(0.10-0.50) | 0.40(0.20-0.55) | 0.50(0.25-0.60) | 0.30(0.20-0.35) | 0.30(0.20-0.40) | 0.30(0.15-0.45) |
| p-Value^a | | 0.031* | 0.422 | 0.126 | 0.113 | 0.053 | 0.555 | 0.913 |
| Molecular subtype | | | | | | | | |
| Luminal-A | 15(45.5) | 0.30(0.20-0.60) | 0.50(0.30-0.70) | 0.40(0.20-0.60) | 0.50(0.20-0.60) | 0.30(0.20-0.40) | 0.40(0.20-0.70) | 0.20(0.10-0.50) |
| Luminal-B | 18(54.5) | 0.20(0.10-0.33) | 0.20(0.10-0.33) | 0.25(0.10-0.43) | 0.35(0.18-0.50) | 0.30(0.20-0.50) | 0.35(0.20-0.40) | 0.30(0.20-0.43) |
| p-Value^a | | 0.015* | 0.016* | 0.138 | 0.124 | 0.711 | 0.344 | 0.409 |

Comparing with luminal A, anti-U1-snRNP and anti-snRNP/Sm concentrations were statistically significantly lower in luminal B tumors ($p=0.015$ and 0.016 respectively). Patients who had high grade tumors showed low concentrations of anti-snRNP/Sm ($p=0.027$), whereas patients who had lymph node metastasis showed high concentrations of anti-U1-snRNP ($p=0.031$).

DISCUSSION

ANAs are autoantibodies against the cell nucleus components. Inflammation, apoptosis and necrosis of the cells are consequences that accompany breast cancer. In this study, thirty three luminal A and luminal B breast cancer patients were been assessed for presence of ANAs and anti-ENAs. Three patients were ANAs positive who had luminal A and had grade I or II tumors and lymph node metastasis. Comparing with luminal A, patients with anti-U1-snRNP and anti-snRNP/Sm concentrations were lower levels in luminal B patients. Patients who had high grade tumors showed low concentrations of anti-snRNP/Sm, whereas patients who had lymph node metastasis showed high concentrations of anti-U1-snRNP.

Autoantibodies found in a cancer patient may be classified into two categories; (a) specific antibodies to antigens which are not associated directly with the tumor such as ANA and (b) antibodies against specific tumor antigens (tumour-associated antigens) such as tumor suppression proteins, oncoproteins, onconeural antigens (Nisihara et al. 2018). Immune response function is against tumor-associated antigens to remove pre-cancerous lesions within during the early carcinogenesis. Thus, ANAs may have a protective role against tumor spread (Tan, H. T. et al. 2009; Erkanli, A. et al. 2009).

Compering to other studies, Nisihara et al. 2018 showed that there was a high prevalence of ANAs positivity in breast cancer patients with a negative association with hormone receptors positivity. Moreover, Mohammed et al 2015, investigated the concentration of ANAs and anti-dsDNA in 35 newly diagnosed breast cancer patients compared to 18 control subjects. They found that ANA concentration was significantly increased in the patients irrespective of the grade or stage, whereas anti-dsDNA had no significant difference between the patients and controls. (Shiel and Jason 1989), reported that 2.9% of patients who had positive ANA had neoplasia. As the number of the studies related to ANA in breast cancer is so limited we were not able to discuss this topic more (Cleaton and Bateman 2020). Further studies are needed to be done for a better understanding of the protective or may be the diagnostic role of ANAs in breast cancer.

CONCLUSION

ANAs positivity was more prevalent in luminal A breast cancer patients compared with luminal B. No statistically significant association was found between ANAs positivity and molecular subtype, age, BMI, grade, tumor stage or lymph node involvement. There was a negative correlation found between the levels of anti-U1-snRNP and anti-dsDNA with Ki-67 expression was found. Additionally, there was a correlation between anti-snRNP/Sm and anti-SS-A/Ro 52 concentrations.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors thanks to Atilla Bozdoğan for his statistical support.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Admou, B., Eddehbi, F. E., Elmoumou, L., Elmojadili, S., Salami, A., Oujidi, M., ... & Hazime, R. (2022). Anti-double stranded DNA antibodies: A rational diagnostic approach in limited-resource settings. *Practical Laboratory Medicine*, 31, e00285.

- Chapman, C., Murray, A., Chakrabarti, J., Thorpe, A., Woolston, C., Sahin, U., ... & Robertson, J. (2007). Autoantibodies in breast cancer: their use as an aid to early diagnosis. *Annals of oncology*, 18(5), 868-873.
- Choi, M.Y., Costenbader, K.H. Understanding the concept of pre-clinical autoimmunity: prediction and prevention of systemic lupus erythematosus: identifying risk factors and developing strategies against disease development. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 890522.
- Cleaton, N., & Bateman, J. (2020). P92 Referral with a positive antinuclear antibody? Lessons from prospective triage and diagnosis in a single-centre service evaluation of 1,547 new rheumatology referrals. *Rheumatology*, 59(Supplement_2), keaa111-090.
- Erkanli, A., Taylor, D. D., Dean, D., Eksir, F., Egger, D., Geyer, J., ... & Roden, R. B. (2006). Application of Bayesian modeling of autologous antibody responses against ovarian tumor-associated antigens to cancer detection. *Cancer research*, 66(3), 1792-1798.
- Fernández Madrid, F., Maroun, M. C., Olivero, O. A., Long, M., Stark, A., Grossman, L. I., ... & Peebles, C. (2015). Autoantibodies in breast cancer sera are not epiphenomena and may participate in carcinogenesis. *BMC cancer*, 15(1), 1-15.
- Hong, C. Q., Weng, X. F., Huang, X. C., Chu, L. Y., Wei, L. F., Lin, Y. W., ... & Peng, Y. H. (2021). A panel of tumor-associated autoantibodies for the detection of early-stage breast cancer. *Journal of Cancer*, 12(9), 2747.
- Lacombe, J., Mangé, A., & Solassol, J. (2014). Use of autoantibodies to detect the onset of breast cancer. *Journal of immunology research*, 2014.
- Ling, M.; Murali, M. Antinuclear antibody tests. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2019, 39.4: 513-524.
- Liu, B. C., DiJohnson, D. A., & O'Rourke, D. J. (2012). Antibody profiling with protein antigen microarrays in early stage cancer. *Expert opinion on medical diagnostics*, 6(3), 187-196.
- Mohammed, M. E. A., & Abdelhafiz, K. (2015). Autoantibodies in the sera of breast cancer patients: antinuclear and anti-double stranded DNA antibodies as example. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 11(2), 341-344.
- Morimoto, K., Yamada, T., Nakamura, R., Katayama, Y., Tanaka, S., Takumi, C., ... & Takayama, K. (2020). Impact of preexisting antinuclear antibodies on combined immunotherapy and chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients. *Medical Oncology*, 37, 1-7.
- Nisihara, R., Machoski, M. C. C., Neppel, A., Maestri, C. A., Messias-Reason, I., & Skare, T. L. (2018). Antinuclear antibodies in patients with breast cancer. *Clinical & Experimental Immunology*, 193(2), 178-182.
- Otsuka, T., Hashii, Y., Murayama, S., Ishizuka, Y., Kojitani, Y., Nishio, M., & Kudo, T. (2023). Checkpoint inhibitor-induced gastritis followed by delayed severe hepatitis in a patient with lung metastases of head and neck squamous cell carcinoma: a case report. *Frontiers in Oncology*, 13, 1164236
- Sexauer, D., Gray, E., & Zaenker, P. (2022). Tumour-associated autoantibodies as prognostic cancer biomarkers—a review. *Autoimmunity reviews*, 21(4), 103041.
- Shiel Jr, W. C., & Jason, M. (1989). The diagnostic associations of patients with antinuclear antibodies referred to a community rheumatologist. *The Journal of Rheumatology*, 16(6), 782-785.
- Tan, H. T., Low, J., Lim, S. G., & Chung, M. C. (2009). Serum autoantibodies as biomarkers for early cancer detection. *The FEBS journal*, 276(23), 6880-6904.
- Turgutalp, K., Oğuz Gök, E., Akça, M., & Kıyım, A. A. (2013). Anti-dsDNA positivity in a patient with prostate cancer and acute kidney injury: a case report. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 22(2), 221-223.

Atf İçin: Ekin, B., Günay, S. ve Erden, Y. (2024). Dereotu (*Anethum graveolens*) İnsan Over Kanseri Hücre Hattında DNA Hasarına Neden Olmadan Hücre Ölümünü İndükler. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 894-900.

To Cite: Ekin, B., Günay, S. & Erden, Y. (2024). Dill (*Anethum graveolens*) Induces Cell Death in Human Ovarian Cancer Cell Line without Causing DNA Damage. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 894-900.

Dereotu (*Anethum graveolens*) İnsan Yumurtalık Kanseri Hücre Hattı A2780 Üzerinde DNA Hasarına Neden Olmadan Hücre Ölümünü İndükler

Büşra EKİN¹, Sevilay GÜNAY², Yavuz ERDEN^{1*}

Öne Çıkanlar:

- Dereotu
- Hücre ölümü
- Kanser

Anahtar Kelimeler:

- Dereotu
- *Anethum graveolens*
- Yumurtalık kanseri
- Sitotoksosite
- Genotoksosite

ÖZET:

Entobotanik çalışmalar dereotunun (*Anethum graveolens*) antibakteriyal ve antioksidan etki sergilediğini ve bazı kanser türleri üzerine baskılayıcı özellik gösterdiği bildirilmektedir. Bu çalışmada dereotunun, insan yumurtalık kanseri hücre serisine karşı sitotoksik ve genotoksik etkilerini belirlemeyi amaçladık. Dereotu özütünün farklı konsantrasyonları insan yumurtalık kanseri hücre hattı (A2780) üzerine uygulandıktan sonra, özütün hücre canlılığı üzerine etkileri 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile belirlendi. Sonrasında, sitotoksik etki gösteren dozların hücre DNA'sı üzerine genotoksik etkileri tek hücre jel elektroforezi (Comet) yöntemi ile ortaya konuldu. Dereotunun 600 µg/mL ve üzeri dozları hücre canlılığını kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azalttı (p<0.05). Sitotoksik etki artan dozlarda daha belirgindi. Comet analizleri sonucunda A2780 hücrelerinde uygulamalar sonrası DNA hasarında anlamlı bir değişikliğin meydana gelmediği belirlendi. Elde edilen bu sonuçlar dereotunun DNA hasarına neden olmadan hücre canlılığını farklı mekanizmalar üzerinden azalttığını düşündürmektedir.

Dill (*Anethum graveolens*) Induces Cell Death in a Human Ovarian Cancer Cell Line, A2780, without Causing DNA Damage

Highlights:

- Dill
- Cell death
- Cancer

Keywords:

- Dill
- *Anethum graveolens*
- Ovarian cancer
- Cytotoxicity
- Genotoxicity

ABSTRACT:

Ethnobotanical studies have reported that dill (*Anethum graveolens*) exhibits antibacterial and antioxidant effects and shows suppressive properties on some cancer types. In this study, we aimed to determine the cytotoxic and genotoxic effects of dill against human ovarian cancer cell lines. After different concentrations of dill extract were applied on human ovarian cancer cell line (A2780), the effects of the extract on cell viability were determined by (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Subsequently, the genotoxic effects of cytotoxic doses on wild-type DNA were determined by single-cell gel electrophoresis (Comet). Dill doses of 600 µg/mL and above significantly decreased cell viability compared to the control group (p<0.05). The cytotoxic effect was more pronounced at increasing doses. As a result of Comet analysis, it was determined that no significant change in DNA damage occurred in A2780 cells after the treatments. These results suggest that dill reduces cell viability through different mechanisms without causing DNA damage.

¹Büşra EKİN ([Orcid ID: 0009-0001-8888-1441](https://orcid.org/0009-0001-8888-1441)), Yavuz ERDEN ([Orcid ID: 0000-0002-2807-6096](https://orcid.org/0000-0002-2807-6096)), Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın, Türkiye

²Sevilay GÜNAY ([Orcid ID: 0000-0002-0130-5629](https://orcid.org/0000-0002-0130-5629)), Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Yavuz ERDEN, e-mail: yerden@bartin.edu.tr

GİRİŞ

Kanser genetik ve kimyasal faktörlerin etkisiyle meydana gelen kontrolsüz hücre bölünmesi ile kendini gösteren bir hastalıktır. Kanserli hücrelerde kontrolsüz çoğalmayı sağlayabilmek adına birçok farklı mekanizma gelişir. Örneğin bu hücreler kendi büyüme faktörlerini kendileri oluşturabilmekte veya büyüme ve bölünme sinyallerini oluşturan hücre içi habercileri aşırı ifade etmektedir. Bunların yanı sıra apoptoza, oksidatif stres ve DNA hasarına karşı direnç gibi hücre altı özellikleri de barındırmaktadır (Luo ve ark. 2009).

Yumurtalık kanseri, kadınlarda görülen ikinci en yaygın ve en ölümcül jinekolojik malignitedir (Cortez ve ark. 2018). 2018’de dünya üzerinde yumurtalık kanseri tanısı alan hasta sayısının tahmini 296.000 olduğu ve bu sayının toplam kanser vakalarının yaklaşık %3.4’ünü oluşturduğu bildirilmektedir (Wild ve ark. 2020). Her kadının yaşam boyu yumurtalık kanserine yakalanma riski %2 civarındadır ve ortalama tanı yaşı ise 63’tür (Wild ve ark. 2020; NIH 2022).

Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler en sık başvurulan yöntemlerdir. Reseptör profili ve gen mutasyonları gibi farklılıklar hastalığın alt tiplerinin oluşmasında etkilidir. Doğru ve etkili tedavinin yapılması için kanser alt tipinin doğru belirlenmesi önemlidir. Çoğu kanser türünde hormon terapisi sıklıkla kullanılan bir tedavi aracıdır (Deli ve ark. 2020). Bunlara ek olarak kişinin beslenmesi ve yaşam tarzına yönelik iyileştirmeler bu hastalık grubunun tedavisinde başarı oranını yükseltici faktörlerdendir (Wilson 2017; Cavalheri ve Granger 2020). Yapılan çalışmalar özellikle bazı bitki türlerinin veya izolatlarının kanser hücrelerine karşı önemli düzeyde sitotoksik etkilerinin olduğunu göstermektedir (Wang ve ark. 2015; Erden 2020; Erden 2021).

Apiaceae familyasına ait olan *Anethum graveolens* (dereotu), aromatik ve tek yıllık bir bitkidir. Bu bitkinin kökeni Akdeniz ve Güneybatı Asya’dır (Jana ve Shekhawat 2010). Gıda amaçlı kullanılan bu türün insan sağlığı üzerine ne gibi bir etkisinin olduğunu anlayabilmek adına çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Araştırmalar dereotunun antibakteriyel (Delaquis ve ark. 2002), antioksidan (Satyanarayana ve ark. 2004), kolestrol düşürücü (Yazdanparast ve Alavi 2001) etkilerinin olduğunu göstermiştir. Ayrıca dereotunun anti-kanser etkilerini konu alan bazı çalışmalar da mevcuttur (Mohammed ve ark. 2018; Al-Oqail ve Farshori 2021). Al-Sheddi ark., dereotu bitkisinin esansiyel yağ asitlerinin insan karaciğer hücre hattı olan HepG2 ile muamele sonucunda hücre canlılığını azalttığını ve konsantrasyona bağlı bir şekilde hücre büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir (Al-Sheddi ve ark. 2019).

Kanser alt tiplerinin birbirlerinden farklı cevaplar oluşturması kanserin tedavisinde standart bir yaklaşımı imkânsız kılmaktadır. Bu durum tedavi süreçlerinin çeşitlendirilmesinin önemini açığa çıkartmaktadır. Bu çalışmada ilk defa dereotunun insan yumurtalık kanseri hücre serisi A2780 üzerine sitotoksik ve genotoksik etkilerini rapor ediyoruz. Sonuçlarımız bu kanser hücreleri için dereotunun önemli düzeyde sitotoksik etki ortaya koyduğunu göstermektedir.

MATERYAL VE METOT

Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Bitki örnekleri yıkanıp kurutulduktan sonra 1:10 (g/mL) oranında %80’lik etanol/PBS karışımında özütlendi. Özütün çözücüsü döner buharlaştırıcıda (Buchi R100, İsviçre) uçuruldu. Geriye kalan özüt tekrardan PBS ile toplandı (Final hacim 10 mL) ve sonrasında 0.22 µm filtre ile süzülerek steril edildi. Analizler süresince örnekler +4°C’de muhafaza edildi.

Hücre Kültürü Çalışmaları

Çalışmada insan yumurtalık kanseri hücre serisi (A2780) kullanıldı. Hücreler (%10 FBS, 100 U/mL penisilin ve 0.1 mg/mL streptomisin ilave edilerek hazırlanan) RPMI-1640 medyum ile kültüre

edildi. Hücre flaskları deneysel süreç boyunca %5 CO₂ içeren ortamda 37°C sıcaklıkta (Thermo Forma II CO₂ İnkübatör, ABD) inkübe edildi. Flask tabanında yoğunlaşan hücreler, tripsin-EDTA solüsyonu kullanılarak toplandı ve tripan mavisi ile boyandıktan sonra sayıldı. Sitotoksikite testleri için 96 kuyucuklu plakalar kullanıldı ve her bir kuyucuğa yaklaşık 15.000 hücre ekimi gerçekleştirildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra dereotunun ve standart kemoterapi ilacı 5-fluorourasilin (5-FU) farklı konsantrasyonları ile hücreler 24 saat süreyle muamele edildi. Sonrasında gruplardaki hücre canlılık düzeyi 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-difeniltetrazolium bromid (MTT) yöntemi ile belirlendi (Mosmann, 1983). Sonuçlar kontrol grubuna kıyasla hesaplanarak % canlılık değişimi olarak verildi. Deneysel 5 tekrar olarak gerçekleştirildi (n=5).

Genotoksikite Analizi (Comet Assay)

Comet analizleri için hücreler 6 kuyucuklu plakalarda kültüre edildi. MTT analizleri sonrası dereotunun A2780 hücreleri için belirlenen IC₅₀ dozu ile 24 saat muamele edilen hücreler toplandı ve iki defa PBS ile yıkandı. Agaroz kaplı lamalar üzerine yaklaşık 10.000 hücre düşük erime ısıya sahip agaroz ile karıştırılarak preparatlar oluşturuldu. Preparatta agarın katılaşması için lamalar 10-15 dakika süreyle +4 °C'de ve karanlıkta bırakıldı. Sonrasında 1 saat lizis solüsyonunda bekletilen lamalar yatay jel elektroforez tankına alındı. Örnekler 25 Volt (maksimum 300 mA) güçte 25 dakika boyunca yürütüldü. Nötralizasyondan sonra lamalar üzerine etidyum bromür solüsyonu eklendi (Singh ve ark. 1988). Slaytların görüntüleri Zeiss Axio Scope.A1 floresans mikroskop altında alındı ve analizler Tritex Comet Score yazılımı kullanılarak yapıldı. Her lam 2 ekim bölgesi olacak şekilde hazırlandı ve toplamda 4 bölgeden rastgele en az 100 hücre sayılarak, grupların kuyruk yoğunluğu (tail intensity; TI), kuyruk uzunluğu (tail length; TL), kuyruk momenti (tail moment; TM) ve %DNA kuyruk oranı (%DNA tail) parametreleri belirlendi (Erden, 2020).

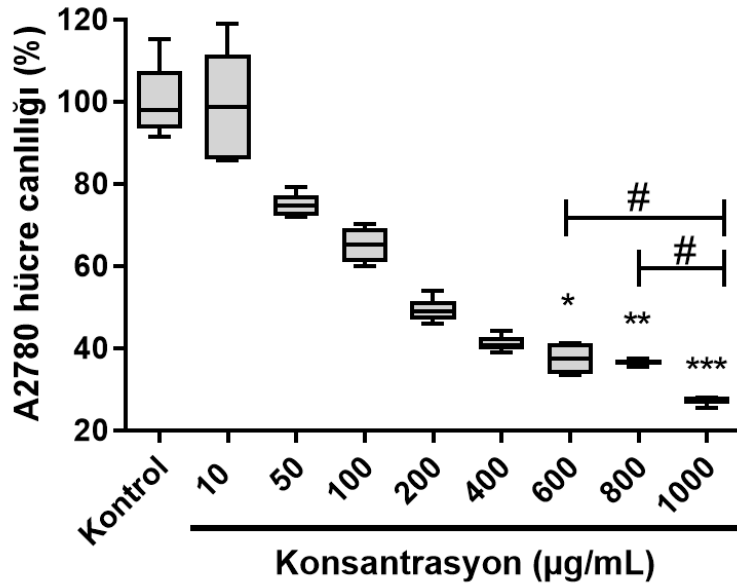
İstatistiksel Analiz

Analizlerde Sigma Plot 12 paket programı kullanıldı. Nicel veriler ortalama±standart sapma, nitel veriler ise sayı (yüzde) ile özetlendi. İncelenen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmaları yapılmadan önce normal dağılıma uygunluk ve varyansların homojenlik kontrolü yapıldı. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle grup ortalaması arasındaki farklılıkta Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda ise Dunn testi kullanıldı. İki değişken arasındaki farkın incelenmesinde ise bağımsız örneklerde Student's t testi kullanıldı. Uygulamalar sonrası özüt ve bileşiğin LogIC₅₀ değeri GraphPad Prism 8 programı ile hesaplandı. p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

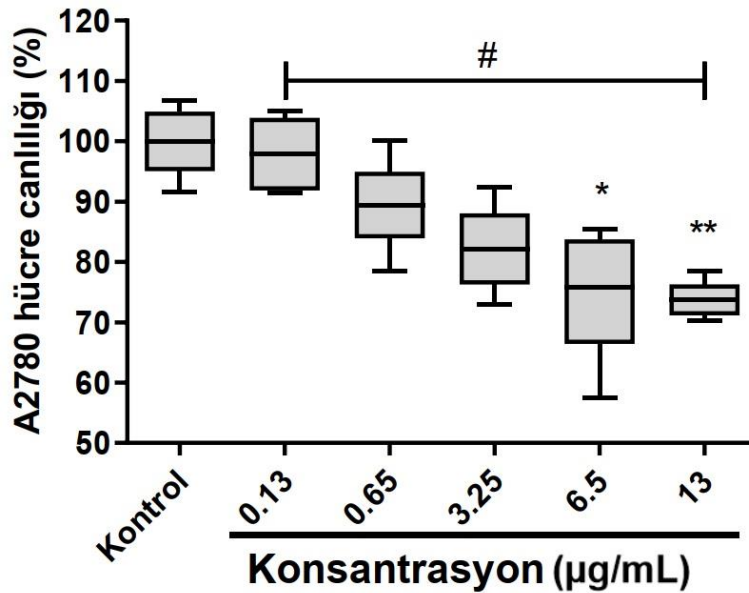
Dereotu A2780 Hücre Canlılık Seviyesini Azalttı

Bu çalışmada dereotu özütünün insan yumurtalık kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik etkilerini belirledik. Özütün farklı konsantrasyonları ile muamele edilen A2780 hücre serisinde canlılık değişimi Şekil 1'de gösterildi. Uygulamadan 24 saat sonra, dereotunun 600 µg/mL ve üzeri dozları hücre canlılığını kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalttı (p<0.05, p<0.01, p<0.001). Canlılığı anlamlı düzeyde azaltan bu dozlar arası ikili karşılaştırmalarda ise 1000 µg/mL'nin diğer iki doza kıyasla (600 ve 800 µg/mL) hücre canlılığında daha kuvvetli bir inhibisyona neden olduğu belirlendi (p<0.05). Buna ek olarak dereotunun A2780 hücreleri üzerine LogIC₅₀ değeri 2.41±0.04 µg/mL (yaklaşık 257 µg/mL) olarak hesaplandı. Çalışmada ayrıca bir kemoterapotik olan 5-FU'nun sitotoksik etkisi de belirlendi. 6.5 ve 13 µg/mL 5-FU uygulamasından 24 saat sonra hücre canlılığı kontrole kıyasla önemli düzeyde azaldı (p<0.05, p<0.01).



Şekil 1. Dereotu uygulamasından 24 saat sonra A2780 hücre serisinde canlılık değişimi (%). Değerler ortanca (en küçük – en büyük) olarak ifade edildi. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$ kontrole kıyasla; # $p<0.05$ iki grup arası farklılığı ifade etmektedir.

13 µg/mL konsantrasyon görülen sitotoksik etki daha belirgindi (Şekil 2). A2780 hücreleri için 5-FU'nun LogIC₅₀ değeri 2.03±0.23 µg/mL (yaklaşık 107 µg/mL 5-FU) olarak belirlendi.



Şekil 2. 5-FU uygulamasından 24 saat sonra A2780 hücre serisinde canlılık değişimi (%). Değerler ortanca (en küçük – en büyük) olarak ifade edildi. * $p<0.05$; ** $p<0.01$ kontrole kıyasla; # $p<0.05$ iki grup arası farklılığı ifade etmektedir.

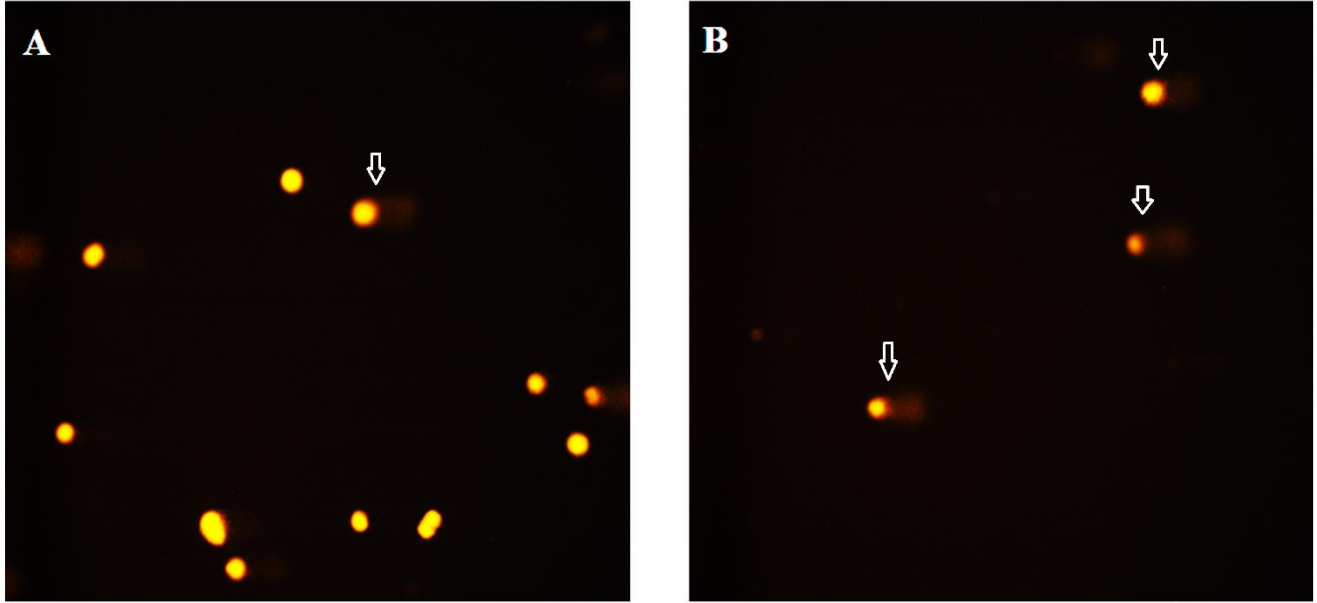
Dereotu Tedavisi A2780 Hücrelerinde DNA Hasarına Neden Olmadı

Uygulamalar sonrası Comet analizi sonuçları Çizelge 1.'de özetlendi. Dereotu özütünün MTT analizleri sonrası belirlenen IC₅₀ değeri ile 24 saat muamele edilen A2780 hücrelerinde anlamlı düzeyde DNA hasarı görülmedi. Belirlenen TI, TM, TL ve %DNA tail parametreleri kontrol grubuyla benzer seviyedeydi. DNA hasarı mikroskop görüntüleri Şekil 3'de gösterildi.

Çizelge 1. Comet analiz sonuçları

| | Kontrol | Dereotu |
|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Tail Intensity (TI) | 17565.00 (11248.50 ± 23711.00) | 15269.00 (10995.00 ± 20979.00) |
| Tail moment (TM) | 0.68 (0.24 ± 1.71) | 0.51 (0.19 ± 1.32) |
| Tail length (TL) | 6.00 (3.00 ± 10.00) | 4.00 (2.00 ± 9.00) |
| %DNA Tail | 12.73 (6.98 ± 18.59) | 10.31 (8.16 ± 16.18) |

Gruplar arası karşılaştırma Student's t testiyle yapıldı. Değerler ortanca (%25 -%75) olarak ifade edildi.



Şekil 3. A2780 hücre hattına dereotu uygulaması sonrası DNA hasarı görüntüsü. (A) kontrol grubu ve (B) uygulama grubu. (200X). Şekilde beyaz okla (↓) ile işaretli görseller DNA hasarlı hücreleri göstermektedir

Yapılan bazı çalışmalar da dereotunun farklı kanser hücre tipleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Al-Oqail ark., dereotu bitkisinden elde edilen özütün antikanser etkinliğini insan meme (MCF-7), akciğer (A-549) ve servikal (HeLa) karsinom hücre hatları üzerinde incelenmiştir. Araştırmacılar 10-1000 µg/mL derişimlerde bitki özütü uygulamalarının MCF-7, A-549 ve HeLa hücre hatlarına karşı doza bağlı bir antikanser/sitotoksik potansiyel gösterdiğini bildirmektedir. Araştırmacılar uygulanan 1000 µg/mL özütün MCF-7, A-549 ve HeLa hücrelerinde canlılık düzeylerin sırasıyla %10, %21 ve %29 olduğunu vurgulamaktadır. Çalışma sonuçları bu etkinin bitki özütü uygulaması sonrası artan apoptotik hücre ölümü nedeniyle açığa çıktığını göstermiştir (Al-Oqail ve Farshori 2021). Mohammed ark., dereotu tohumlarının etil asetat fraksiyonunun HepG2 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonuçları, bu bileşiğin uygulanan 0.1-0.8 mg/mL dozlarının HepG2 hücre proliferasyonunu doza ve zamana bağlı olarak belirgin bir şekilde baskıladığını göstermiştir. Ayrıca uygulamaların DNA hasarına yol açan olayları tetiklediği ve programlanmış hücre ölümüne yol açan süreci başlattığı gösterilmiştir (Mohammed ve ark. 2018). Diğer bir çalışmada, dereotundan elde edilen uçucu yağ nanoemülsiyonlarının insan akciğer adenokarsinom hücreleri (A549) üzerine sitotoksikite ve apoptotik etkileri rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda 12.5-100 µg/mL uçucu yağ nanoemülsiyonları uygulanan gruplarda güçlü sitotoksik etki açığa çıktığı ve bu etkinin artan kaspaz-3 ve kaspaz-8 aracılı apoptotik hücre ölümü nedeniyle gerçekleştiği bildirilmektedir (Tavakkol Afshari ve ark. 2022).

Yapılan çalışmalarda dereotundan elde edilen özütlerin farklı kanser hücre serilerinde sitotoksik etki gösterdiği ve kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği belirtilmektedir.

Bu çalışmada dereotunun insan yumurtalık kanseri hücreleri A2780 üzerine sitotoksik ve genotoksik etkisini ilk defa rapor ediyoruz. Dereotu uygulaması A2780 hücrelerinde artan doza bağlı olarak güçlü sitotoksik etki sergiledi. Uygulama gruplarında canlılık değişimi 50 µg/mL dozdan itibaren başladı ve doza bağlı olarak daha belirgin hücre ölüm düzeyi belirlendi. Uygulanan 600 µg/mL ve üstü dozlarda bu değişim anlamlı gerçekleşti. 600 µg/mL özüt uygulaması yaklaşık %40 hücre sağkalımı ile sonuçlanırken, en yüksek doz uygulaması (1000 µg/mL) yaklaşık %30 hücre sağ kalımına neden oldu. Mevcut literatürler dikkate alındığında (Al-Oqail ve Farshori 2021; (Mohammed ve ark. 2018) benzer dozların çalışma sonuçlarımızda olduğu gibi önemli düzeyde hücre canlılığını engellediği belirlenmiştir. Çalışmamızda gözlemlenen bu sitotoksik etkinin DNA hasarına bağlı olup-olmadığını belirlemek için Comet analizleri yapıldı. Comet sonuçları özüt uygulamasının hücre DNA'sında kontrole kıyasla anlamlı bir hasara neden olmadığını gösterdi. Bu sonuçlar dereotunun A2780 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin DNA hasarı kaynaklı gerçekleşmediğini ortaya koymaktadır.

SONUÇ

Medikal bitkilerin kullanım alanlarının belirlenmesi ve bu türlerden yeni gıda takviyeleri veya farmakolojik potansiyele sahip bileşiklerin tanımlanması önemli bir çalışma sahasıdır. Bu çalışmada dereotunun insan yumurtalık kanseri hücrelerinde DNA hasarına neden olmadan sitotoksik etki sergilediğini gösterdik. Sonraki çalışmalarda muhtemel sitotoksik etkinin moleküler temelini aydınlatmak için kaspaz bağımlı veya bağımsız ölüm süreçleri araştırılabilir. Böylelikle anlamlı değişim sergilemeyen DNA hasarının moleküler temeli aydınlatılabilir. Mevcut literatür ve sonuçlarımız dereotunun birçok farklı kanser tipinde antiproliferatif ve sitotoksik etkisini rapor etmektedir. Tedavi süreçlerinde dereotu kaynaklı gıda takviyesi kullanımı kemoterapiye katkı sunabilir. Bu durumun aydınlatılması için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında desteklenmiştir (Proje No: 1919B012004321).

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Al-Oqail, M. M. ve Farshori, N. N. (2021). Antioxidant and Anticancer Efficacies of *Anethum graveolens* against Human Breast Carcinoma Cells through Oxidative Stress and Caspase Dependency. *Biomed Res Int*, 2021: 5535570.
- Al-Sheddi, E. S., Al-Zaid, N. A., Al-Oqail, M. M., Al-Massarani, S. M., El-Gamal, A. A. ve Farshori, N. N. (2019). Evaluation of cytotoxicity, cell cycle arrest and apoptosis induced by *Anethum graveolens* L. essential oil in human hepatocellular carcinoma cell line. *Saudi Pharm J*, 27(7): 1053-1060.
- Cavalheri, V. ve Granger, C. L. (2020). Exercise training as part of lung cancer therapy. *Respirology*, 25 Suppl 2: 80-87.

- Cortez, A. J., Tudrej, P., Kujawa, K. A. ve Lisowska, K. M. (2018). Advances in ovarian cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*, 81(1): 17-38.
- Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B. ve Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol*, 74(1-2): 101-109.
- Deli, T., Orosz, M. ve Jakab, A. (2020). Hormone Replacement Therapy in Cancer Survivors - Review of the Literature. *Pathol Oncol Res*, 26(1): 63-78.
- Erden, Y. (2020). Capsanthin Stimulates the Mitochondrial Apoptosis-Mediated Cell Death, following DNA Damage in MCF-7 Cells. *Nutrition and Cancer*: 1-9.
- Erden, Y. (2021). Sour black mulberry (*Morus nigra* L.) causes cell death by decreasing mutant p53 expression in HT-29 human colon cancer cells. *Food Bioscience*, 42: 101113.
- Goodarzi, M. T., Khodadadi, I., Tavilani, H. ve Abbasi Oshaghi, E. (2016). The Role of *Anethum graveolens* L. (Dill) in the Management of Diabetes. *J Trop Med*, 2016: 1098916.
- Jana, S. ve Shekhawat, G. S. (2010). *Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice. *Pharmacogn Rev*, 4(8): 179-184.
- Luo, J., Solimini, N. L. ve Elledge, S. J. (2009). Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. *Cell*, 136(5): 823-837.
- Mohammed, F. A., Elkady, A. I., Syed, F. Q., Mirza, M. B., Hakeem, K. R. ve Alkarim, S. (2018). *Anethum graveolens* (dill) - A medicinal herb induces apoptosis and cell cycle arrest in HepG2 cell line. *J Ethnopharmacol*, 219: 15-22.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2): 55-63.
- NIH. "Cancer Stat Facts: Ovarian Cancer". from <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>. Son erişim tarihi:28/12/2022)
- Patra, S., Pradhan, B., Nayak, R., Behera, C., Das, S., Patra, S. K., Efferth, T., Jena, M. ve Bhutia, S. K. (2021). Dietary polyphenols in chemoprevention and synergistic effect in cancer: Clinical evidences and molecular mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90: 153554.
- Satyanarayana, S., Sushruta, K., Sarma, G. S., Srinivas, N. ve Subba Raju, G. V. (2004). Antioxidant activity of the aqueous extracts of spicy food additives--evaluation and comparison with ascorbic acid in in-vitro systems. *J Herb Pharmacother*, 4(2): 1-10.
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R. ve Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 175(1): 184-191.
- Tavakkol Afshari, H. S., Homayouni Tabrizi, M., Ardalan, T., Jalili Anoushirvani, N. ve Mahdizadeh, R. (2022). *Anethum Graveolens* Essential Oil Nanoemulsions (AGEO-NE) as an Exclusive Apoptotic Inducer in Human Lung Adenocarcinoma (A549) Cells. *Nutr Cancer*, 74(4): 1411-1419.
- Wang, Y., Yu, H., Zhang, J., Gao, J., Ge, X. ve Lou, G. (2015). Hesperidin inhibits HeLa cell proliferation through apoptosis mediated by endoplasmic reticulum stress pathways and cell cycle arrest. *BMC Cancer*, 15(1): 682.
- Wild, C., Weiderpass, E. ve Stewart, B. (2020). World cancer report: cancer research for cancer prevention. *Lyon: International Agency for Research on Cancer*.
- Wilson, D. J. (2017). Exercise for the Patient after Breast Cancer Surgery. *Semin Oncol Nurs*, 33(1): 98-105.
- Yazdanparast, R. ve Alavi, M. (2001). Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. *Cytobios*, 105(410): 185-191.
- Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D. P., Li, S., Chen, Y. M. ve Li, H. B. (2016). Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients*, 8(8).

Atf İçin: Turan, F. ve Yağcı, E. (2024). Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) Bazı Ön Uygulamaların Tuzluluk Stresi Koşullarında Çimlenme ve Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 901-912.

To Cite: Turan, F. & Yağcı, E. (2024). Effect of Some Priming on Germination and Enzyme Activity in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Salinity Stress Conditions. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 901-912.

Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) Bazı Ön Uygulamaların Tuzluluk Stresi Koşullarında Çimlenme ve Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Ferzat TURAN^{1*}, Ebru YAĞCI¹

Öne Çıkanlar:

- Laboratuvar denemesi şeklinde yürütülen bu çalışmada, Ayçiçeğinde GB ve GA₃ ile ön uygulama yapılmıştır
- Farklı dozlarda ön muamele gören tohumlara tuz stresi uygulanmıştır
- Bitki düzenleyici gruplarına alternatif olarak Glisin Betain iyi sonuç vermiştir

Anahtar Kelimeler:

- Ayçiçeği
- Çimlenme
- Glisin Betain
- GA₃
- Tuzluluk

ÖZET:

Bitkiler doğada, biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin olumsuz etkilerine karşı sürekli savaşmaktadırlar. Dünyada ve ülkemizde tarımsal alanlarda karşılaşılan tuzluluk, sürdürülebilir tarımı olumsuz etkileyen önemli faktörlerden biridir. Bu çalışma, tuz stresi koşullarındaki ayçiçeği tohumlarına ön muamele olarak uygulanan Gibberellik Asit (GA₃) ve Glisin Betain'in (GB) çimlenme ve fide gelişimine etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırma Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri laboratuvarında yürütülmüştür. Denemede tohumlar ekim öncesi GA₃ ve GB'nin dört farklı konsantrasyonu (0, 15, 30, 45 mg/l) ile ön muamele alınmış ve daha sonra dört farklı tuz (Na⁺Cl⁻) konsantrasyonu (0, 6, 9, 12 dS/m) ile tuz stresi uygulamasına alınmıştır. Deneme Tesadüf Parselleri Faktöriyel Deneme Desenine göre 3 tekrürlü olarak kurulmuştur. Çalışmada çimlenme hızı, çimlenme gücü, fide uzunluğu, kök uzunluğu, fide yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı özellikleri ve enzim aktiviteleri olarak CAT, SOD ve POD incelemeye alınmıştır. Denemede tuzluluk stresinin artışına paralel olarak, çimlenme hızı ve çimlenme gücünde düşüşler ve diğer fide özelliklerinde olumsuz etkiler görülmüştür. Ancak araştırma sonuçlarına göre çimlenme ve fide özelliklerini incelediğimizde, genel olarak 6 dS/m tuz stresinde 30 ve 45 mg/l GB ve GA₃ uygulamalarının tuz stresine karşı olumlu sonuçlar verdiği görülmüştür. Tuz stresinde özellikle 45 mg/l GB uygulaması; çimlenme hızı, çimlenme gücü ve kök yaş ağırlığı özelliklerinde olumlu sonuçlara rastlanmıştır. Sonuç olarak, ayçiçeği tohumuna tuz stresi koşullarında bitki düzenleyici gruplarına alternatif olarak Glisin Betain uygulamalarının üretimde fayda sağlayacağı kanısına varılmıştır.

Effect of Some Priming on Germination and Enzyme Activity in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Salinity Stress Conditions

Highlights:

- In this study, which was carried out as a laboratory experiment, a preliminary application was made with GB and GA₃ in sunflowers
- Salt stress was applied to seeds pretreated with different doses
- Glycine Betaine has provided good results as an alternative to plant regulators

Keywords:

- Sunflower
- Germination
- Glycine Betaine
- GA₃
- Salinity

ABSTRACT:

In nature, plants constantly fight against the negative effects of biotic and abiotic stress factors. Salinity encountered in agricultural areas in the world and in our country is one of the most important factors that negatively affects sustainable agriculture. This study was carried out to investigate the effects of Gibberellic Acid (GA₃) and Glycine Betaine (GB) applied as pre-treatment to sunflower seeds under salt stress conditions on germination and seedling development. In the experiment, the seeds were pre-treated with four different concentrations of GA₃ and GB (0, 15, 30, 45 mg/l) before planting, and then four different salt (Na⁺Cl⁻) concentrations (0, 6, 9, 12 dS/m) was put into salt stress application. The experiment was set up with 3 replications according to the Randomized Plot Factorial Trial Design. In the study, germination rate, germination power, seedling length, root length, seedling fresh weight, root fresh weight characteristics and enzyme activities such as CAT, SOD and POD were examined. In the experiment, parallel to the increase in salinity stress, decreases in germination rate and germination power and negative effects on other seedling characteristics were observed. According to the results obtained, positive results were observed for germination and seedling characteristics at 6 dS/m salt stress in 30 and 45 mg/l GB and GA₃ applications. As a result, it was concluded that Glycine Betaine applications to sunflower seeds as an alternative to plant regulator groups under salt stress conditions will be beneficial in production.

¹Ferzat TURAN ([Orcid ID: 0000-0001-5960-6478](https://orcid.org/0000-0001-5960-6478)), Ebru YAĞCI ([Orcid ID: 0000-0001-9760-0536](https://orcid.org/0000-0001-9760-0536)) Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri, Sakarya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ferzat TURAN, e-mail: ferzatturan@subu.edu.tr

Bu çalışma Ebru YAĞCI'nın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Tüm bitkiler yaşamları boyunca birçok strese maruz kalmaktadır. Bunlardan biri de tarımsal üretimi ve alanları kısıtlayan tuz stresidir. Tuzluluğun etkileri, sınırlı yağış, yüksek buharlaşma, terleme, kötü su ve toprak yönetimi uygulamalarıyla ilişkili yüksek sıcaklığın olduğu yarı kurak ve kurak alanlarda daha belirgin olarak görülmektedir (Azevedo Neto ve ark., 2006). Tuzluluk sorunu hem dünyada hem de ülkemiz topraklarında karşılaşılan en büyük problemlerden biri sayılmaktadır. Tarım ve peyzaj sulamalarındaki hatalı uygulamalar, düşük yağış miktarıyla birleşerek, ülkenin genelinde yaygınlaşan kurak iklim koşullarıyla birlikte, drenaj sorunları ve tuzluluk problemlerini artırmaktadır. Tuz stresi bir abiyotik stres faktörü olarak tarım yapılan toprakları olumsuz etkilemekte olup, tuzluluk görülen topraklarda yetişen bitkilerde birçok olumsuzluklara sebep olmaktadır (Yılmaz ve ark., 2011). Bitkilerin içinde bulunduğu yetiştirme ortamının tuzlu olması enzim aktivasyon bozukluğu, besin dengesizliği, metabolik süreçte aksamalar, su alımındaki dengesizlik, oksidatif stresin artması ve gelişimdeki kısıtlılık gibi olumsuz etkilere neden olmaktadır (Orcutt & Nilsen, 1996). Stres koşulları superoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerin aktivitesini artırmaktadır (Barbosa-Nascimento ve ark., 2014; Singh ve ark., 2009; Kang ve ark., 2002).

Tuz stresi bitkilerdeki gelişme dönemlerine göre farklı etkiler gösterebilmekte olup, genel olarak bodurluk, kök büyümesinde gerileme, hücrelerin ölmesi sonucu kök ve yaprak kenarlarında nekroz oluşumu gibi etkiler de yapabilmektedir (Dölarlan ve Gül, 2012). Tuz stresi koşullarında, düşük turgor nedeniyle yaprağın hücre genişlemesi azalmakta, bu da yaprak alanı ve ağırlığının azalmasına neden olmaktadır. Yüksek tuzlu koşullar altındaki bitkiler, büyüme ortamındaki düşük ozmotik potansiyeli nedeniyle metabolik faaliyetler için bünyelerine yeterli suyu alamamakta ve zararlı miktarlardaki Na^+ ve Cl^- elementleri bitkiye geçişi meydana gelmektedir. Na^+ , enzim aktivasyonu ve protein sentezindeki bir dizi bozukluktan kaynaklanan iyona özgü hasarın başlıca nedeni olarak bildirilmiştir (Khan ve ark., 2004). Bitkilerde tuz stresinin etkileri, bitkinin türüne, maruz kaldığı tuzun cinsine ve miktarına, ayrıca maruz kalma süresine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Tuz stresi bitkiyi doğrudan öldürebilmekte veya bitkinin tuza toleransına bağlı olarak yapraklarda klorofil ve membran parçalanmasıyla kloroz ve nekroza neden olabilmektedir (Aycan ve ark., 2016; Coşkun ve ark., 2020).

Ülkemizde ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), önemli bir yağ bitkisi olarak bilinmektedir. Yağlık kullanımının yanında çerezlik, yem vs gibi kullanım alanları da mevcuttur. Dolayısıyla dünyada birçok ülkede ekonomik açıdan önemli düzeyde tarımı yapılmaktadır. Ayçiçek üretimi ülkemizin tarım alanlarında önemli bir konuma sahiptir. Verimini ve kalitesini etkileyen stres altındaki alanların ekonomik bir şekilde belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Tarımsal üretimde büyük bir problem olan tuzlu topraklarda tuza dayalı stres oluşumunu azaltan önlemlerle ayçiçeği üretimi yapmak bitkisel üretimde ekonomik açıdan kazançlar sağlayacaktır (Turhan ve ark., 2006). Tuzluluğa toleransın önemli mekanizmaları arasında prolin, glisin betain ve polioller gibi bazı uyumlu çözümlerin birikmesi yer almaktadır (Safarnejad ve ark., 1996; Badawi ve ark. 2004; Mudgal ve ark., 2010).

Glisin Betain adı verilen biyostimulant; bitkinin beslenmesini, gelişimini, ürün kalitesi ve verimini iyileştirmek ve bitkilerin strese karşı dayanıklılığını arttırmak amacıyla, tohumla ön muamele ya da bitkilere yapraktan ve topraktan uygulanan organik veya inorganik bileşiklerdir (Badawy ve ark. 2024). Bunun yanı sıra, proteinlerin yapısal bütünlüğünü korur, enzim aktivitesini destekler, hücre zarındaki oksidatif hasarı azaltır ve osmotik stres koşullarında antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirir (Külahtaş ve Çokuysal, 2016; Bakhoun ve Sadak, 2016; Jain ve ark., 2021). Giberellik Asit

hormonu ise, tohumların çimlenmesini arttırmak, dormansiyi ortadan kaldırmak gibi işlevlerinin yanında, hücre bölünmesini uyararak hücre uzamasına katkı sağlamaktadır (Erdemli ve Kaya, 2015; Kazemi Afshar ve Çelen, 2021).

Bu çalışma, günümüzde tarımsal alanlarda gittikçe artış gösteren tuzluluk problemine karşı tolerans sağlayan uygulamalardan GB ve GA₃'ün, ülkemizde geniş alanlarda yetiştiriciliği yapılan ayçiçeğinin tuzlu koşullardaki; tohum çimlenme, fide özellikleri ve enzim aktivitesine karşı etkilerini belirleyerek, tuz stresine karşı verdiği tepkileri incelemek ve çıkan olumlu sonuçları üreticilere önermek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Araştırma, 2022 yılında Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Tarla Bitkileri laboratuvarında yürütülmüştür. Bitki materyali olarak yerli ve milli Palancı-1 hibrit çerezlik ayçiçeği çeşidi kullanılmıştır. Tohumlar kontaminasyon riskine karşı %3'lik sodyum hipoklorit (NaClO) ile yüzey sterilizasyonu sonrasında, üç kez saf suyla durulanmıştır. Tohumlara ön muamele için bitki gelişim düzenleyici olarak Giberellik Asit (GA₃) ve biyostimulant olarak Glisin Betain (GB) kullanılmıştır. Glisin Betain ve Giberellik Asitle muamele edilecek tohumlar dört farklı (0, 15, 30, 45 mg/l) dozda hazırlanan solüsyonlarda ayrı ayrı 12 saat bekletildikten sonra kurutma kâğıtları arasında oda sıcaklığında kurutulmuştur. Tuz konsantrasyonları; 0, 6, 9 ve 12 dS/m dozları olacak şekilde EC metre cihazı ile ayarlanmıştır. Tuz stresi uygulanacak petri kaplarına dizilen tohumlara hazırlanan çözeltilerden 5'er ml uygulama yapılarak, çimlendirmeye bırakılmıştır. Deneme, 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 40 adet tohum olacak şekilde tesadüf parseller faktöriyel deneme desenine göre, 25±1 °C'lik sabit sıcaklıktaki çimlendirme ortamında kontrollü bir şekilde yürütülmüştür.

Çalışmada çimlenme hızı, çimlenme gücü, kök uzunluğu, fide uzunluğu, fide yaş ağırlığı ve kök yaş ağırlığı özellikleri hesaplanmıştır. CAT, SOD ve POD enzim analizleri için, bitki yaprak örnekleri sıvı azotla porselen havanda ezilerek 0.5 g tartılıp ependorf tüplerine aktarıldıktan sonra üzerine 0.5 ml hazırlanan 0.1 M KH₂PO₄ (pH: 7), %1 PVP, 1 mM EDTA tampon çözeltisi ilave edilip, daha sonra +4 °C'de 10.000 rpm'de 15 dk santrifüj yapılmıştır. Tüpün üzerine çıkan süpernatant enzim analizlerinde kullanılmıştır (Nakano ve Asada, 1981).

Katalaz (CAT) Aktivitesi

CAT analizi için 0.375 µl (40 mM H₂O₂) + 0.750 µl (tampon çözelti) + 10 µl enzim ekstraktı karıştırılıp spektrofotometride 240 nm'de 3 dk boyunca kontrole karşı ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar, her gram yaprak başına düşen enzim ünitesi (U/mg) şeklinde kaydedilmiştir (Nakano ve Asada, 1981). Tuz stresi, endojen proteazlar tarafından CAT proteininin parçalanmasını tetikleyebilir (Hertwig ve ark., 1992). Ayrıca aşırı tuz miktarı katalaz protein sentezini etkileyerek katalaz aktivitesi azalmaktadır (Feierabend ve Engel, 1986).

Superoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Hazırlanan reaksiyon çözeltisinden (30 ml 100 mM fosfat tamponu (pH:7) + 0.6 ml 1 mM Na₂ EDTA + 2 ml 130 mM Methionine + 2 ml 750 µM NBT + 2 ml 20 mM Riboflavin) 1'er ml tüplere alınıp üzerine bitkiden elde edilen 50 µl süpernatant ilave edilerek vortex yapılmıştır. Tüplerde bulunan karışım mor renge dönüşmesi için tüpler 4.000 lüks ışık altında 20-25 dk bekletilmiştir. Daha sonra karanlıkta bekletilen kontrol tüpüne göre 560 nm'de spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Elde edilen veriler, her miligram protein başına düşen enzim üniteleri (U/mg) şeklinde kaydedilmiştir (Tianzi ve Baolong, 2016). Superoksit dismutaz (SOD), hücre savunma mekanizmasında önemli bir

role sahiptir, söz konusu enzim superoksit radikallerini H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü katalize etmektedir (Foyer ve Noctor, 2000).

Peroksidaz (POD) Aktivitesi

Reaksiyon çözeltisinden (5 mM 54 µl guaicol + 5 mM 15 µl H_2O_2 + 100 ml 0.1 M fosfat tamponu) 3 ml alınarak 10 µl süpernatanta ilâve edilip, 470 nm'de 3 dk boyunca spektrofotometride okuması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar enzim ünitesi (U/mg) olarak kaydedilmiştir (Angelini ve ark, 1990).

İstatiksel Analizler

Araştırmadaki veriler, MSTAT-C ve SPSS istatistik paket programları kullanılarak analiz edilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Palancı-1 çerezlik ayçiçeği çeşidine farklı dozlarda (0, 15, 30, 45 mg/l) Glisin Betain (GB) ve Giberellik Asit (GA_3) uygulamalarının dört farklı tuz konsantrasyonları (0, 6, 9 ve 12 dS/m) stresi şartlarında incelenen tüm özelliklere ilişkin varyans analizi sonuçları, Çizelge 1'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre incelenen tüm özelliklerde Kimyasal×Doz×Tuz interaksiyonu istatistiksel olarak %1 düzeyinde ($P < 0.01$) önemli olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1).

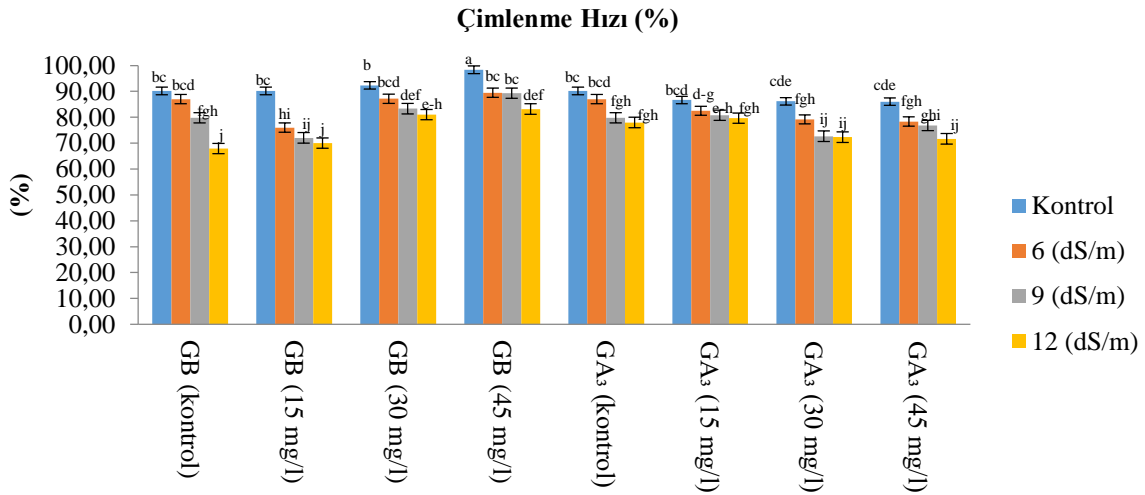
Çizelge 1. Tuz stresi altında farklı GB ve GA_3 dozu uygulamalarının ayçiçeğinde incelenen özelliklere ilişkin varyans analiz sonuçları

| V. K | S.D. | Kareler Ortalaması | | | | | | | | |
|--------------|------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | Çimlenme hızı (%) | Çimlenme gücü (%) | Fide uzunluğu (mm) | Kök uzunluğu (mm) | Fide yaş ağırlığı (g) | Kök yaş ağırlığı (g) | CAT (U/mg) | SOD (U/mg) | POD (U/mg) |
| Kimyasal (k) | 1 | 331.56** | 270.01** | 1084.54** | 3059.36** | 0.001** | 0.016** | 0.003** | 0.025** | 0.001** |
| Doz (D) | 3 | 246.91** | 216.97** | 922.20** | 609.02** | 0.006** | 0.002** | 0.0002** | 0.196** | 0.003** |
| Tuz (T) | 3 | 65.68** | 49.76** | 833.68** | 1023.22** | 0.01** | 0.001** | 0.001** | 0.490** | 0.009** |
| K × D | 3 | 570.57** | 164.65** | 1118.26** | 415.07** | 0.004** | 0.002** | 0.0002** | 0.007** | 0.00005** |
| K × T | 3 | 14.14* | 20.86** | 131.212** | 109.72** | 0.001** | 0.001** | 0.0002** | 0.009** | 0.0001** |
| D × T | 9 | 236.72** | 115.3** | 318.47** | 163.89** | 0.002** | 0.0003** | 0.00008** | 0.010** | 0.001** |
| K × D × T | 9 | 62.120** | 39.85** | 178.54** | 54.84** | 0.002** | 0.0001** | 0.00005** | 0.002** | 0.001** |
| Hata | 64 | 5.199 | 2.88 | 2.12 | 1.79 | 0.00008 | 0.00006 | 0.0000003 | 0.00003 | 0.0000005 |
| Genel | 95 | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |

** P < 0.01 seviyesinde önemli, * P < 0.05 seviyesinde önemlidir.

Çimlenme Hızı (%)

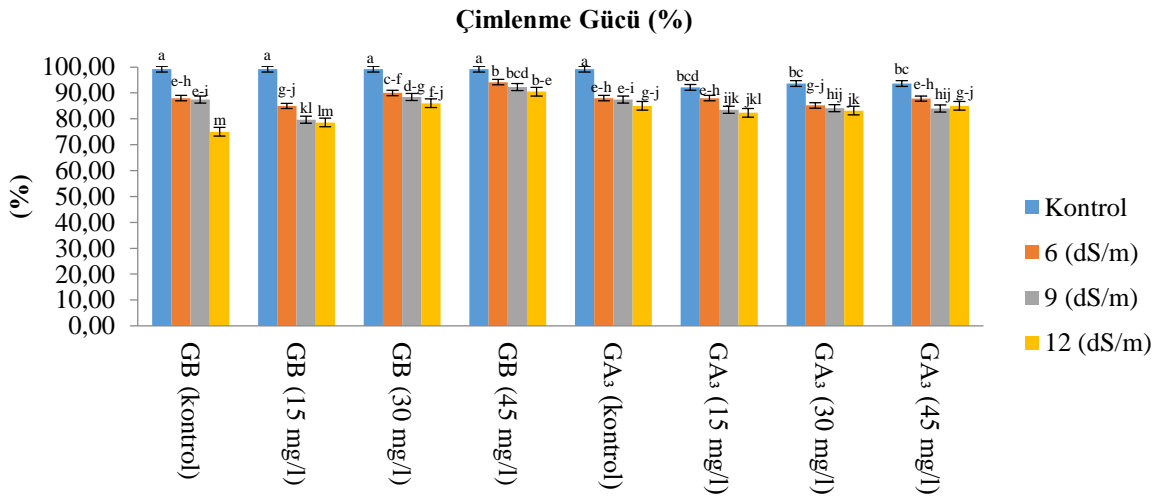
Çimlenme hızına ait ortalama değerleri %98.33 ile %67.92 arasında değişmektedir. En yüksek çimlenme hızı %98.33 (kontrol + 45 mg/l GB dozunda) ve en düşük çimlenme hızı %67.92 olarak (12 dS/m NaCl + kontrol GB) görülmüştür (Şekil 1). Tuz stresindeki artış tüm uygulamalarda çimlenme hızında düşümlere neden olmuştur. Elde edilen sonuçlara paralel olarak, Imran ve ark. (2015), ayçiçeğinde yaptıkları araştırmada artan tuz stresi koşullarında bitkinin strese girdiğini ve çimlenme hızında düşümler meydana geldiğini ifade etmişlerdir.



Şekil 1. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde çimlenme hızına etkileri

Çimlenme Gücü (%)

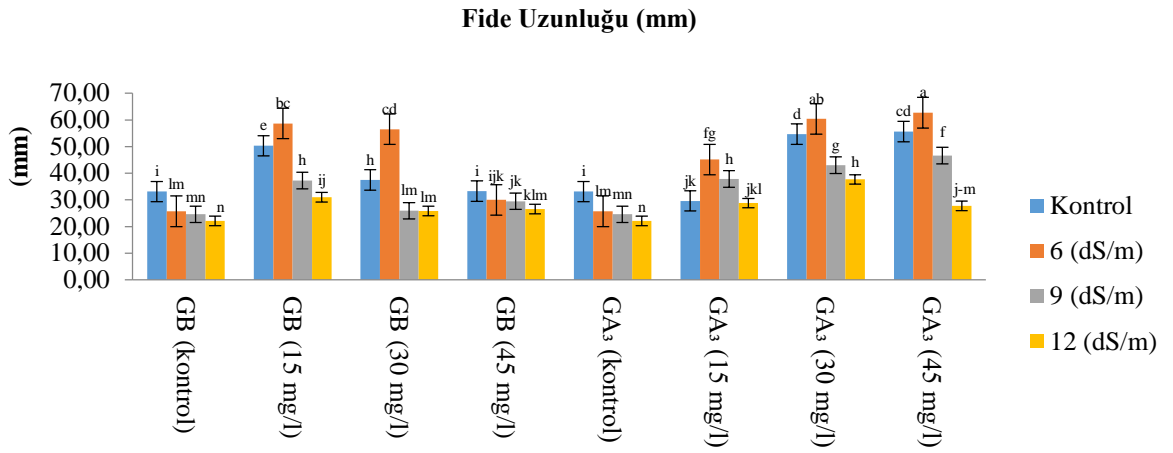
Elde edilen sonuçlara göre en yüksek çimlenme gücü, kontrol + 30 mg/l GB dozunda %99.20 görülmüştür. En düşük çimlenme gücü ise 12 dS/m NaCl + kontrol GB dozunda %75.00 olarak gerçekleşmiştir. Day ve ark. (2008), farklı ayçiçeği genotiplerinde yaptıkları çalışmada artan tuz konsantrasyonlarıyla birlikte çimlenme yüzdesinin azaldığını bildirmişlerdir. Elde edilen sonuç çalışmamızla benzerlik göstermektedir.



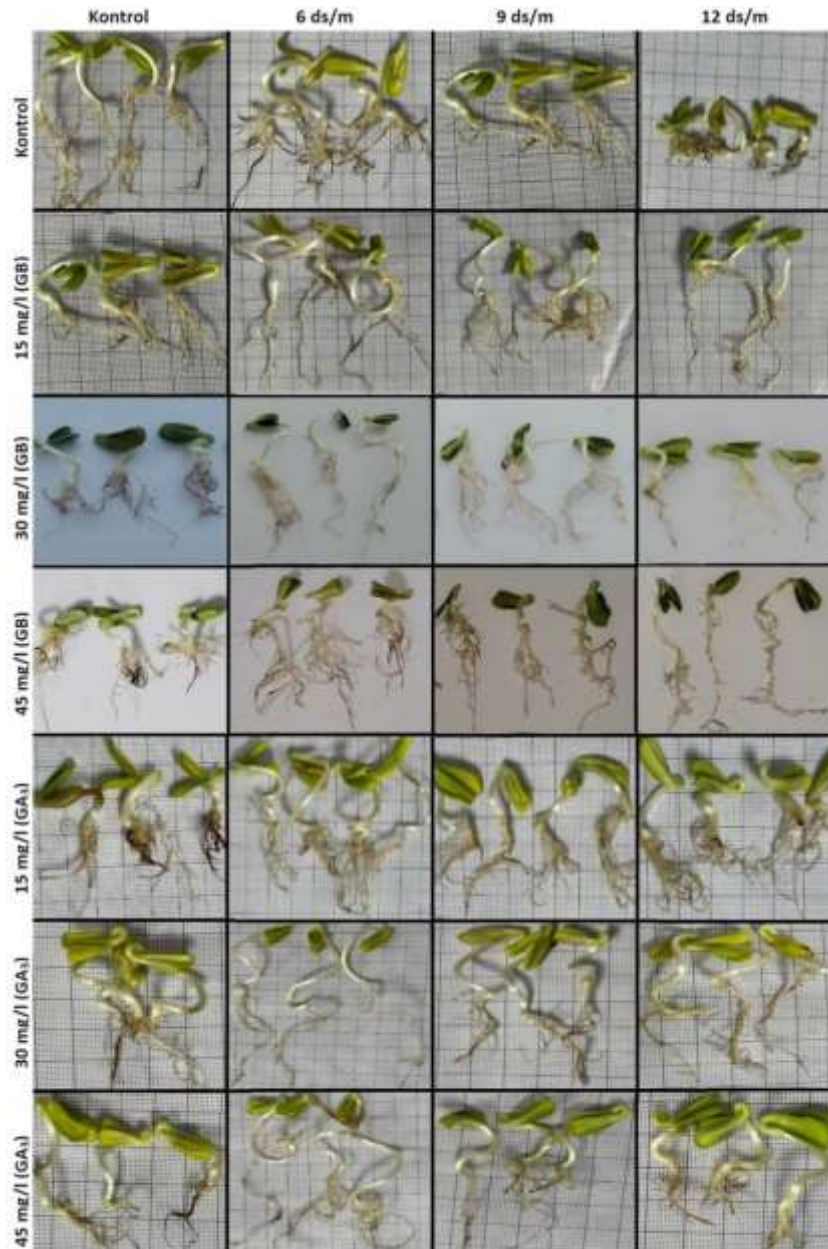
Şekil 2. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde çimlenme gücüne etkileri

Fide Uzunluğu (mm)

Duncan analizi sonuçlarına göre en yüksek fide uzunluğu 62.71 mm olarak 6 dS/m NaCl + 45 mg/l GA₃ dozunda ve en düşük fide uzunluğu 22.15 mm olarak 12 dS/m NaCl + kontrol uygulamasından elde edilmiştir (Şekil 3 ve 4). Kaya ve ark. (2006), ayçiçeğinde yaptıkları çalışmada 23.5 dS/m tuz stresinde fide gelişiminin engellendiğini ifade etmişlerdir. Erdemli ve kaya. (2015) yaptıkları çalışmalarında ayçiçeği üzerine uyguladıkları farklı dozlarda Gibberellik Asitin fide uzunluğunun artırdığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda da tuz stresi fide uzunluğunu olumsuz etkilerken, biyostimulant uygulaması ise olumlu etki yapmıştır.



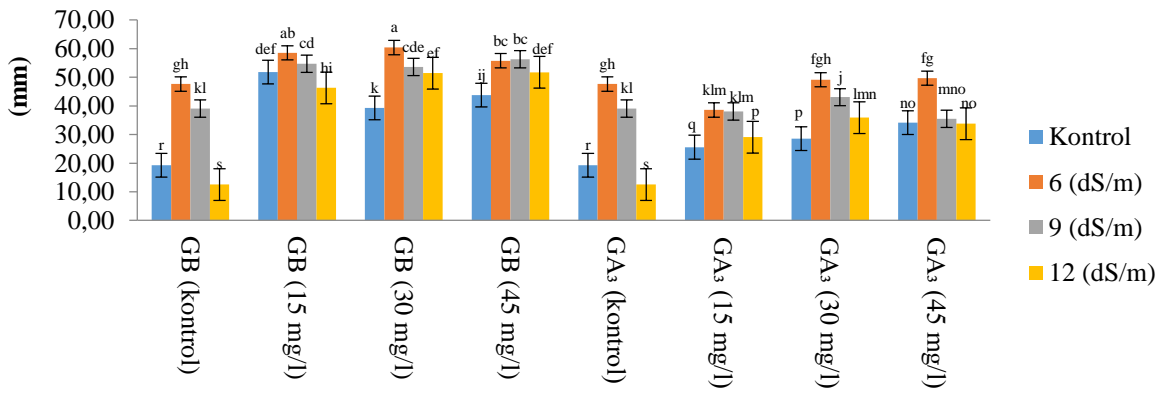
Şekil 3. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde fide uzunluğuna etkileri

Şekil 4. Ayçiçeği üzerinde GB ve GA₃ uygulamalarının farklı tuz konsantrasyonlarında etkileri

Kök Uzunluğu (mm)

Şekil 5'te görüldüğü üzere en yüksek kök uzunluğu 6 dS/m NaCl + 30 mg/l GB dozunda 60.37 mm olarak ölçülmüştür. Tuz stresi altında kök uzunlukları incelendiğinde, kontrol ve diğer gruplara göre 6 dS/m tuz uygulaması en yüksek kök uzunluğu değerine sahip olmuştur (Şekil 4). Gehan ve Mervat (2016) çalışmalarında, Glisin Betain ile ön muamele edilen ayçiçeği tohumlarında, fotosentetik pigmentlerin, vejetatif organların iyileştirilmesiyle ayçiçeğinde tuz toleransını arttırdığını, dolayısıyla bitki büyümesini ve nihayetinde verim miktarını ve kalitesinin iyileştirdiğini belirtmişlerdir. En düşük kök uzunluğu 12.54 mm ile 12 ds/m kontrol grubunda gözlemlenmiştir. Day ve ark. (2008), Ayçiçeğinde farklı dört genotipte yapılan çalışmada artan NaCl seviyeleriyle kök ve sürgün uzunluğunun azaldığını ifade etmişlerdir.

Kök Uzunluğu (mm)

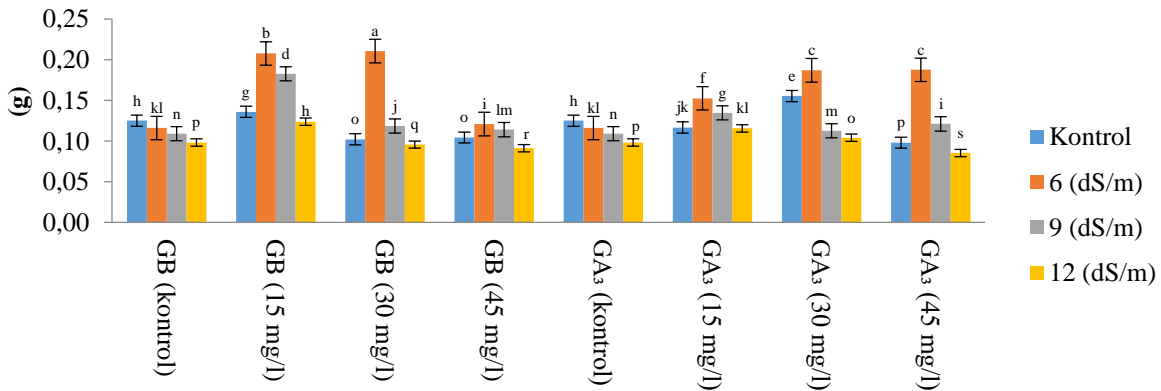


Şekil 5. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde kök uzunluğuna etkileri

Fide Yaş Ağırlığı (g)

Fide yaş ağırlığı bakımından ortalamalar 0.2105 ile 0.0854 g arasında değişmektedir. Şekil 6'da görüldüğü üzere en yüksek fide yaş ağırlığı 6 dS/m NaCl + 30 mg/l GB dozunda 0.2105 g olup, bunu 6 dS/m NaCl + 15 mg/l GB dozu, 0.2077 g ile izlemektedir (Şekil 4). Day ve ark. (2008), Ayçiçeğinde farklı dört genotipte yapılan çalışmada artan NaCl seviyeleriyle yaş fide ağırlığının azaldığını ifade etmişlerdir. Yüksek tuzlulukta fide yaş ağırlığının azalması, fizyolojik kuraklık nedeniyle büyüme ortamından suyun zayıf emiliminden kaynaklanabilmektedir (Wu ve ark., 2015).

Fide Yaş Ağırlığı (g)

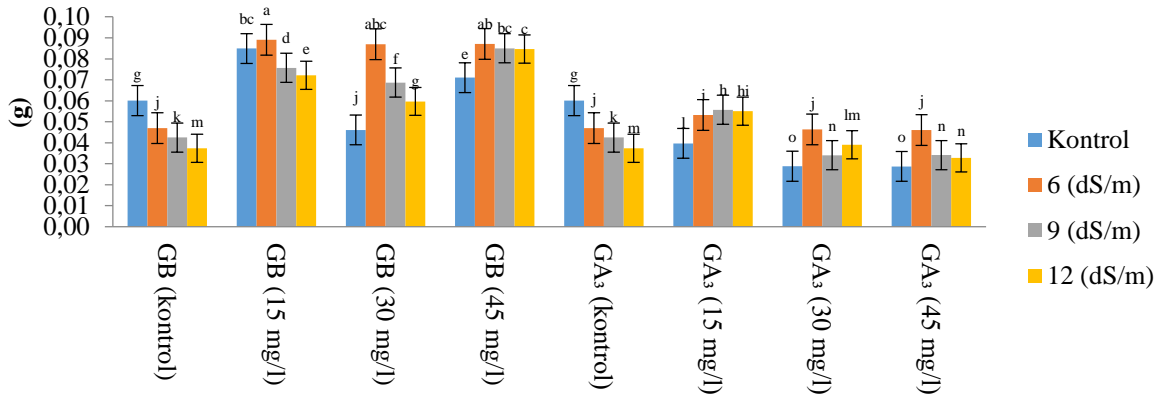


Şekil 6. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde fide yaş ağırlığına etkileri

Kök Yaş Ağırlığı (g)

İncelenen sonuçlara göre en yüksek kök yaş ağırlığı 6 dS/m NaCl + 15 mg/l GB dozunda 0.089 g ölçülürken, bunu 6 dS/m NaCl + 30 mg/l GB ve 9 dS/m NaCl + 45 mg/l GB dozu 0.087 g ile takip etmiştir (Şekil 4 ve 7). Tuz stresi altında yaş kök ağırlıkları incelendiğinde artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak azalışlar görülmektedir. Day ve ark. (2008), Ayrıççeğinde farklı dört genotipte yapılan çalışmada, genotiplerin tuz stresinden etkilenme şekillerinin farklı olduğunu ve genel olarak artan NaCl konsantrasyonlarında yaş ağırlıkta azalma görüldüğünü bildirmişlerdir.

Kök Yaş Ağırlığı (g)

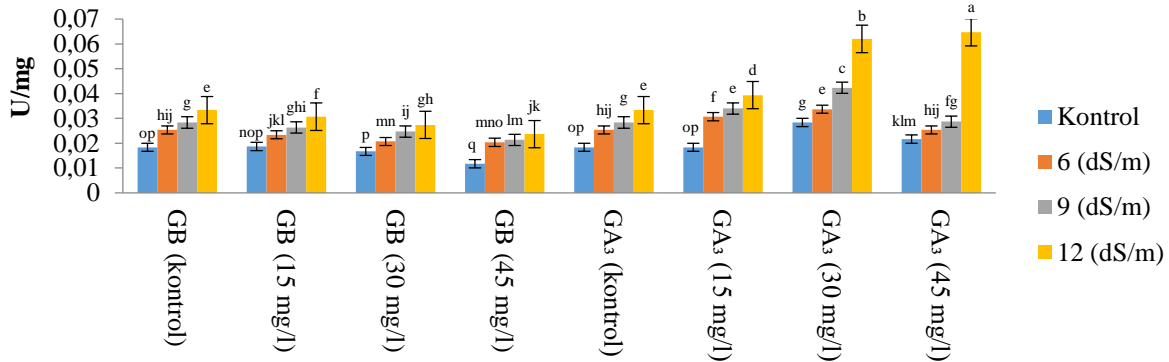


Şekil 7. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde kök yaş ağırlığına etkileri

Katalaz (CAT) Aktivitesi

Katalaz enziminin üçlü interaksyonu incelendiğinde; en yüksek CAT aktivitesi 0.06467 U/mg olarak 12 dS/m + 15 mg/l GA₃ uygulamasında, en düşük CAT aktivitesi 0.01167 U/mg, kontrol grubu + 45 mg/l GB uygulamasında elde edildiği görülmektedir (Şekil 8). Yapılan uygulamalarda genel olarak tuz konsantrasyonunun artmasıyla beraber CAT aktivitesinde de artış gözlenmiştir.

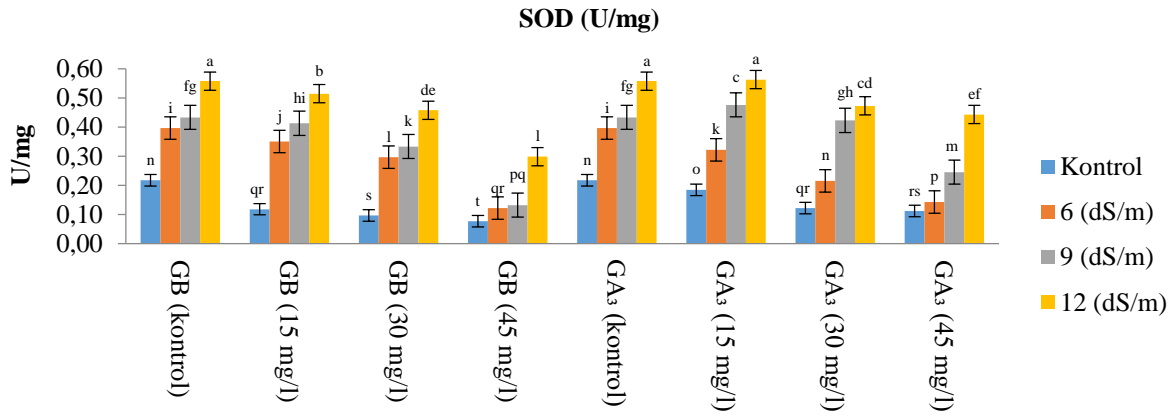
CAT (U/mg)



Şekil 8. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde CAT enzim aktivitesine etkileri

Superoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

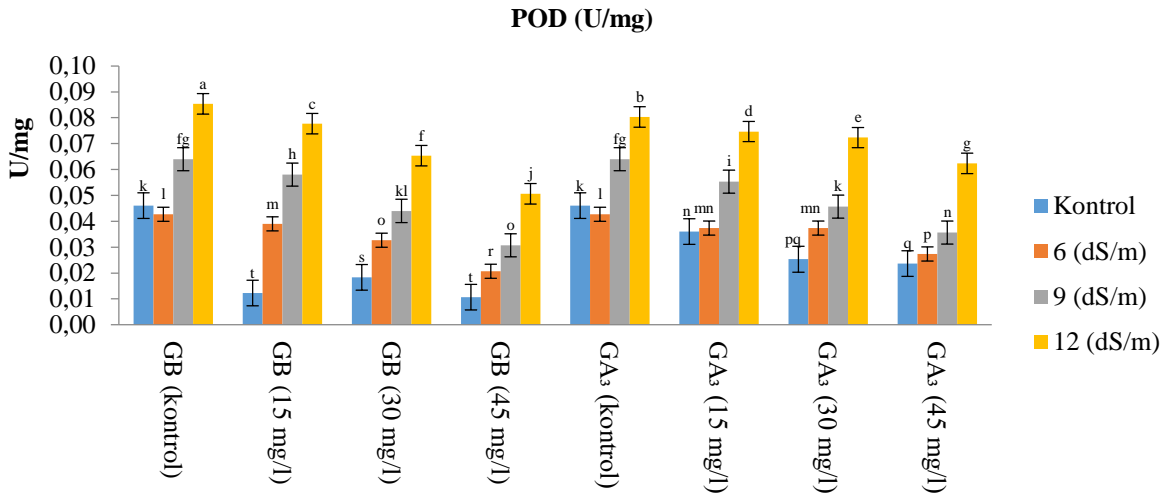
Superoksit Dismutaz Aktivitesi analiz ile ilgili sonuçlar Şekil 9'da sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek SOD aktivitesi 0.5633 U/mg, 12 dS/m NaCl + 15 mg/l GA₃ elde edilmiştir. En düşük SOD ise 0.07667 U/mg olarak kontrol + 45 mg/l GB konsantrasyonunda gözlemlenmiştir.



Şekil 9. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde SOD enzim aktivitesine etkileri

Peroksidaz (POD) Aktivitesi

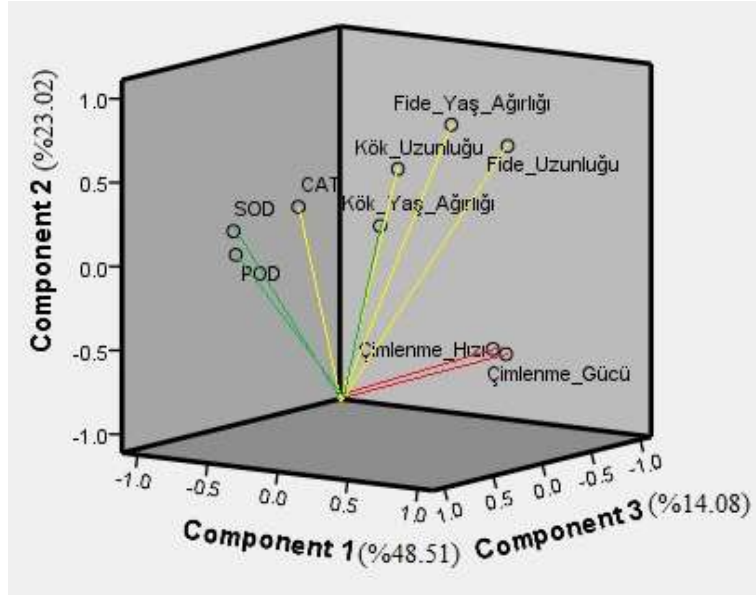
POD aktivitesi bakımından ortalamalar 0.01067 ile 0.085433 U/mg arasında değişmektedir. Şekil 10'da görüldüğü gibi en yüksek POD aktivite 12 ds/m + kontrol GB'den elde edilmiştir. Araştırmacılar ayçiçeğinde tuzluluk uygulamasının POD aktivitesi artışını sağladığını bunun nedeninin ise peroksidazı kodlayan genlerin aşırı ifadesinden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir (Mittal ve Dubey, 1991; Sudhakar ve ark., 2001; El-Tayeb, 2005).



Şekil 10. Kimyasal ön uygulamaların tuz stresinde POD enzim aktivitesine etkileri

Temel Bileşenler Analizi

Yapılan temel bileşen analizinde, üç bağımsız temel bileşen veri değişikliklerinin toplam %86.34'unu tanımlamıştır. Birinci bileşen toplam veri varyansının %48.51'ini açıklamış ve 4.37 öz değerine sahip olmuştur. Bu bileşende çimlenme hızı ve çimlenme gücü en yüksek bileşen katsayılarını içermektedir (Şekil 11). İkinci bileşenin varyansı %23.02 olup fide uzunluğu, kök uzunluğu, fide yaş ağırlığı ve CAT enzim aktivitesi özelliklerini içermekte ve öz değeri 2.07'dir. Toplam varyanın %14.81'ini tanımlayan ve öz değeri 1.33 olan üçüncü bileşen ise kök yaş ağırlığı, SOD ve POD enzim aktivite özelliklerini kapsamaktadır. Temel bileşen analizi çoğunlukla genotipleri gruplandırmak, ilişkileri daha iyi yorumlamak ve özelliklerin toplam çeşitliliğe katkısını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Her bileşenin yüzde cinsinden gösterdiği varyans, verilerdeki genel değişikliklerin yorumlanmasında ve özelliğin önemini ifade etmektedir. Sarabi ve ark, (2016) çalışmalarında temel bileşenler analizini (PCA), tuza toleranslı çeşitleri tuza duyarlı olanlardan ayırmak için kullanmışlardır.



Şekil 11. Ayçiçeği üzerinde GB ve GA₃ uygulamalarının farklı tuz konsantrasyonlarında etkilerinin temel bileşenler analizi ile gruplandırılması

SONUÇ

Çalışmada farklı tuz konsantrasyonları altında farklı dozlarda ön uygulama yapılan Glisin Betain (GB) ve Giberellik Asitin (GA₃) ayçiçeği üzerinde çimlenme ve fide özellikleri ile enzimatik aktivitelerine etkileri değerlendirilmiştir. Tüm tuz stresi konsantrasyonları, ayçiçeği tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimini olumsuz etkilemiştir. Bu olumsuz etkileri azaltmak ya da ortadan kaldırmak için ise ekim öncesi tohum ön uygulaması yapılmıştır. Yapılan ön uygulamalar ayçiçeğinin çimlenme ve fide gelişimini 6 ds/m tuzluluk ve üzerindeki konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre azalttığı tespit edilmiştir. Tuz stresinin meydana getirdiği olumsuzlukları azaltmada GB ve GA₃'ün olumlu etkileri net bir şekilde görülmüştür. Ancak Glisin Betainin özellikle 6 ds/m tuzlulukta iyileştirici etkisi tüm çimlenme ve fide özelliklerinde GA₃'e göre daha yüksek bulunmuştur. 45 mg/l GB ön uygulaması çimlenme hızı ve çimlenme gücünde en yüksek değerlere sahip olmuştur. Ayçiçeği tohumuna uygulanan 45 mg/l GA₃ fide uzunluğu en iyi sonucu vermiştir. Kök uzunluğu ve fide yaş ağırlığında ise en iyi sonuç, 30 mg/l Glisin Betain dozu uygulamasında görülmüştür. Kontrol grubuna göre 6 ve 9 ds/m tuz konsantrasyonlarında kısmen kök uzunluğunda artış olurken, bu artış 12 ds/m dozunda durmuş ve düşüşler görülmüştür. Bitki kökleri tuzlu ortamdan kaçmak için kökleri uzatmakta ancak belli bir dozun üstünde bu kaçış etkili olmamaktadır. Araştırmalar tuzluluğun artmasının sodyum, potasyum ve fosfor emilimini arttırdığını, nitrojen emilimini ise azalttığını göstermiştir, bu da çimlenme yüzdesindeki azalmanın nedeni olabilir.

Sonuç olarak; 6-9 ds/m tuz konsantrasyon ortamlarında yapılan ayçiçeği yetiştiriciliğinde, bitki gelişimini teşvik etmek amacıyla hormon kullanımına alternatif olarak biyostimulant Glisin Betain'nin 30 mg/l dozunun uygulamasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma yüksek lisan tezinden üretilmiştir bu vesile ile bu çalışmanın gerçekleşmesinde maddi imkan sağlayan Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Ferzat TURAN; Çalışmanın kurgusu, makalenin yazımı, laboratuvar ve istatistik analizleri için ve Ebru YAĞCI, laboratuvar çalışmaları, analizler ve veri toplama açısından makalede katkı sağladıklarını beyan etmektedirler.

KAYNAKLAR

- Angelini, R., Manes, F. and Federico, R. (1990). Spatial and functional correlation between ascorbate oxidase and peroxidase activities and their dependence upon deetilation and wounding in chick-pea. *Planta*, 182: 89-96.
- Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Eneas-Filho, J., Abreu, C. E. B., Filho, E. G. (2006). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environ. Exp. Bot*, 56: 87-94.
- Badawi, G.H., Kawano, N., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., Kubo, A., Tanaka, K. (2004). Over-expression of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplasts enhances the tolerance to salt stress and water deficit. *Physiologia Plantarum*. 121: 231–238.
- Badawy, A.A., Alamri, A.A., Hussein, H.A.A., Salem, N.F.G., Mashlawi, A.M., Kenawy, S.K.M., El-Shabasy, A. (2024). Glycine Betaine Mitigates Heavy Metal Toxicity in *Beta vulgaris* (L.): An Antioxidant-Driven Approach. *Agronomy*, 14, 797.
- Bakhroum, G., Sadak, M. (2016). Physiological role of glycine betaine on sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants grown under salinity stress. *Int.J. Chem Tech Res*, 9(3), pp 158-171.
- Barbosa-Nascimento, J., Freitas Barrigossi, J. A. (2014). The role of antioxidant enzymes in plant defense against herbivorous insects and phytopathogens. *Agrarian Academy, Centro Científico Conhecer–Goiânia*, 1: 234–250.
- Coşkun, Y., Taş, İ., Akçura, M., Oral, A., Tütenocaklı, T., Yeter, T. (2020). Farklı sulama suyu tuzluluk düzeylerinin mısırın fide gelişimine etkileri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 7(4): 1139-1147.
- Day, S., Kaya, M. D., Kolsarıcı, Ö. (2008). Bazı çerezlik ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) genotiplerinin çimlenmesi üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (3) 230-236.
- Dölarıslan, M., Gül, E. (2012). Toprak Bitki İlişkileri Açısından Tuzluluk. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5 (2): 56-59.
- El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul.*, 45: 215-224.
- Erdemli, H., Kaya, M. D. (2015). Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.)’de Giberellik Asit Dozlarının Verim ve Abiyotik Stres Koşullarında Çimlenme Üzerine Etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Dergisi* 24(1):38-46.
- Feierabend, J., Engel, S. (1986). Photoinactivation of catalase In vitro and in leaves. *Archv. Biochem. Biophys.*, 251: 567-576.
- Foyer, C. H., Noctor, G. (2000). Tansley Review 112. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytol.*, 146: 359-388.
- Hertwig, B., Streb, P., Feierabend, J. (1992). Light Dependence of Catalase Synthesis and Degradation in Leaves and the Influence of Interfering Stress Conditions. *Plant Physiology*, 100, 3, 1547–1553.
- Imran, M. A., Sajid, Z. A., Chaudhry, M. N. (2015). Arsenic (As) Toxicity to Germination and Vegetative Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Pol. J. Environ. Stud. Vol. 24, No. 5: 1993-2002.*
- Jain, P., Pandey, B., Singh, P., Singh, R., Singh, S.P., Sonkar, S., Gupta, R., Rathore, S.S., Singh, A.K. (2021). Plant Performance and Defensive Role of Glycine Betaine under Environmental Stress. In *Plant Performance Under Environmental Stress: Hormones, Biostimulants and Sustainable Plant Growth Management*, Springer. Cham, Switzerland, pp. 225–248.
- Kang, H. M., Saltveit, M. E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115: 577– 576.

- Kaya, M. D., Okçu, G., Atak, M., Çıkılı, Y., Kolsarıcı, Ö. (2006). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.), *European Journal of Agronomy*, 24(4): 291-295.
- Khan, M. A., Gul, B., Weber, D. J. (2004). Action of plant growth regulators and salinity on seed germination of *Ceratoides lanata*, *Canadian Journal of Botany*, 82: 37-42.
- Külahtaş, B. ve Çokuysal, B. (2016). Biyostimulantların Sınıflandırılması ve Türkiye'deki Durumu . Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 185-200. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/cutarim/issue/30644/332749>, Erişim tarihi: 20 Nisan 2023.
- Mittal, R., Dubey, R. S. (1991). Behaviour of peroxidases in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. *Plant Physiol. Biochem.*, 29: 31-40.
- Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A. (2010). Biochemical Mechanisms of salt Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Botany*. 6: 136-143.
- Nakano, Y., Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is Scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts plant. *Cell Physiol*, 22(3), 867-880.
- Orcutt, D. M., Nilsen, E.T. (1996). The physiology of plants under stres. *Soil and biotic factors*. pp: 177-237.
- Sarabi, B., Bolandnazar, s., Ghaderi, N., Tabatabaei., S. J. (2016). Multivariate analysis as a tool for studying the effects of salinity in different melon landraces at germination stage. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1):264-271.
- Safarnejad, A., Collin, H.A., Bruce, K.D., Mc Neily, T. (1996). Characterization of alfalfa (*Medicago sativa*) following in vitro selection for salt tolerance. *Euphytica*, 92:55-61.
- Singh, B. N., Singh, B. R., Sarma, B. K. Singh, H. B. (2009). Potential chemoprevention of N-nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis by polyphenolics from *Acacia nilotica* bark. *Chemico-Biological Interactions*, 181: 20–28.
- Kazemi Afshar, S., Çelen, A. E. (2021). Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) tohumluklarına yapılan bazı uygulamaların bitki gelişimi ve tohum verimine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 58(1), 55-61.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Sci.*, 161: 613-619.
- Tianzi, C., Baolong, Z. (2016). Measurements of Proline and Malondialdehyde Content and Antioxidant Enzyme Activities in Leaves of Drought Stressed Cotton. *Bio-protocol*, 6(17): e1913.
- Turhan, H., Genç, L., Bostancı, Y. B., Sümer, A. Kavdır, Y. (2006). Tuz stresinin ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) üzerine etkilerinin yansıma teknikleri yardımıyla belirlenmesi. http://uzalcbs.org/wp-content/uploads/2016/11/2006_44.pdf, Erişim tarihi: 20 Nisan 2023.
- Wu, G. Q., Jiao, Q., Shui Q. Z. (2015). Effect of salinity on seed germination, seedling growth, and inorganic and organic solutes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Soil Environ*. Vol. 61, No. 5: 220–226.
- Yılmaz, E., Tuna, M., Bürün, B. (2011). Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri, gösterdikleri tolerans stratejileri, *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 7.1: 47–66.

Atf İçin: Keskin, B. ve Duman, A. (2024). Bazı Kinoa çeşitlerinin Verim ve Bazı Verim Öğelerine Farklı Sıra Aralığının Etkileri. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 913-921.

To Cite: Keskin, B. & Duman, A. (2024). Effects of Different Row Spacing on Yield and Some Yield Components of Some Quinoa Varieties *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 913-921.

Bazı Kinoa Çeşitlerinin Verim ve Bazı Verim Öğelerine Farklı Sıra Aralığının Etkileri

Bilal KESKİN^{1*}, Abdurrahman DUMAN²

Öne Çıkanlar:

- Kinoa
- Sıra aralığı
- Yaş ot verimi

Anahtar Kelimeler:

- Kinoa
- Çeşit
- Sıra aralığı
- Yaş ot verimi
- Bitki boyu

ÖZET:

Ekstrem iklim ve toprak şartlarına dayanıklı olan kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) alternatif yem kaynağı olarak avantajlara sahiptir. Bu çalışmada sulu koşullarda 4 farklı sıra aralığı mesafede (17.5, 35.0, 52.5, 70.0 cm) yetiştirilen 2 kinoa çeşidinin (Cherry Vanilla ve Read Head) bitki boyu, ana sap kalınlığı, yaprak oranı, sap oranı, salkım oranı ve yaş ot verimleri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda farklı sıra aralıklarının ana sap kalınlığı, yaprak oranı ve yaş ot verimi üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Sıra aralığı arttıkça yaprak oranı ve yaş ot verimi düşerken, ana sap kalınlığının arttığı belirlenmiştir. Kullanılan çeşitlerin ise bitki boyu, yaprak oranı, sap oranı ve yaş ot verimi üzerine önemli etkisi olmuştur. Red Head çeşidinin bitki boyu, sap oranı ve yaş ot verimi yüksek olurken, Cherry Vanilla çeşidinin ise yaprak oranı daha yüksek bulunmuştur. Araştırma sonuçlarına göre, yüksek yaş ot veriminin alınması için Red head çeşidinin 17.5 cm sıra aralığında ekilmesi gerektiği belirlenmiştir.

Effects of Different Row Spacing on Yield and Some Yield Components of Some Quinoa Varieties

Highlights:

- Quinoa
- Row spacing
- Fresh herbage yield

Keywords:

- Quinoa
- Variety
- Row spacing
- Fresh herbage yield
- Plant length

ABSTRACT:

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), which is resistant to extreme climate and soil conditions, has advantages as an alternative feed source. Plant height, main stem thickness, leaf ratio, stem ratio, cluster ratio and fresh herbage yield of 2 (two) quinoa varieties (Cherry Vanilla and Read Head) grown in 4 different row spacings (17.5, 35.0, 52.5, 70.0 cm) under irrigated conditions were determined. As a result of the research, the effect of different row spacings on main stem thickness, leaf ratio and fresh herbage yield was found to be significant. It was determined that as the row spacing increased, leaf ratio and fresh herbage yield decreased, while main stem thickness increased. The varieties used had a significant effect on plant height, leaf ratio, stem ratio and fresh herbage yield. While the plant height, stem ratio and fresh herbage yield of the Red Head variety were higher, the leaf ratio of the Cherry vanilla variety was found to be higher. According to the results of the research, it was determined that the Red head variety should be sowing in 17.5 cm row spacing in order to obtain high fresh herbage yield.

¹ Bilal KESKİN ([Orcid ID: 0000-0001-6826-9768](https://orcid.org/0000-0001-6826-9768)) İğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölüm, İğdır, Türkiye

² Abdurrahman DUMAN ([Orcid ID: 0009-0005-5327-4368](https://orcid.org/0009-0005-5327-4368)), Kağızman İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Kağızman, Kars, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Bilal KESKİN, e-mail: bilalkeskin66@yahoo.com

Bu çalışma Abdurrahman DUMAN'ın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Hayvancılıkta genel olarak üretim maliyetlerinin %70'lik kısmını yem giderleri oluşturmaktadır. Yem giderleri içerisinde kaba yemin oranı %78'dir (Harmanşah, 2018). Hayvancılık faaliyetlerinin karlılığı için ihtiyaç duyulan kaba yemlerin kaliteli olması ve ucuza temin edilmesi gerekmektedir. Ülkemizdeki çayır mera alanları bu yem ihtiyacını temin sağlayamadığı, çayır mera alanlarına ek olarak tarla ziraatında yetiştiriciliği yapılan yem bitkilerinin alanının da (%9,3) kaba yem ihtiyacını karşılamaya yetmediği bilinmektedir (TUİK, 2022). Tarım ve hayvansal üretim bakımından gelişmiş ülkelerde bu oranın daha fazla olduğu bilinmektedir.

Türkiye İstatistik Kurumundan elde edilen 2022 yılı Haziran ayı verilerine göre ülkemizde mevcut hayvan sayıları yaklaşık olarak 16 milyon büyükbaş, 56 milyon küçükbaş şeklindedir (TUİK, 2022). Bölgelere göre bakıldığında en yoğun hayvancılık yapılan bölgemizin Doğu Anadolu Bölgesi olduğunu ve bu bölgede hayvancılığın genel olarak çayır ve mera alanlarına bağlı olduğu bilinmektedir. Ancak çayır ve mera alanlarından elde edilen kaba yem miktarının mevsimlere göre farklılık gösterdiği, bu alanların üretim periyodu boyunca hayvanların ihtiyaç duyduğu kaliteli kaba yem miktarını karşılayamaması hayvansal üretimde kalite ve verim kayıplarına sebep olmaktadır. Hayvan refahı ve hayvansal ürün verimini arttırmak için düzenli kaliteli yemleme sağlanması gerekmektedir. Hayvanların genetik özellikleri çevre koşulları ne kadar iyi olursa olsun istenilen verimin alınabilmesi için yerli ve kaliteli yemler ile beslenmenin sağlanması gerekmektedir (Gözügül ve Öztürk, 2008).

Tarla ziraatında yaygın olarak yonca, fiğ, mısır, korunga, yulaf, arpa, sudanotu, sorgum yetiştirilmektedir. Ancak günden güne değişen iklim koşulları, artan küresel ısınma, tarım alanlarının kuraklık ve tuzluluk gibi etkiler sonucu marjinal alanlara dönüşmesi nedeniyle bu tür bitkilerin yetiştiriciliği sınırlanmaktadır. Ülkemizdeki yem açığını kapatabilmek ya da en aza indirebilmek için üretim yapılamaz hale gelen marjinal alanları tekrar üretime kazandırmaya yönelik çalışmalar yapılması gerekmektedir. Yapılan bilimsel araştırmalar neticesinde tuzlu, soğuk ve kurak şartlara dayanıklı olduğu bildirilen kinoa bitkisinin marjinal alanların değerlendirilmesinde kullanılabileceği anlaşılmaktadır (Geerts et al., 2009; Razzaghi, 2011; Jacobsen et al., 2005; Keskin et al., 2023).

Kazayağigiller (*Chenopodiaceae*) familyasının bir üyesi olan kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) tek yıllık, çift çenekli, fizyolojik olarak C3 bitkileri içerisinde yer alan bir türdür. And Dağlarının bitkisi olarak bilinen kinoa bazı Güney Amerika ülkelerde 5000 yıldır kültürü yapılmakta ve insan gıdası olarak tüketilmektedir (Jacobsen, 2003; Tan ve Temel, 2019). Sahip olduğu genetik çeşitliliğe bağlı olarak geniş bir adaptasyon yeteneğine sahip olan kinoa ülkemizde henüz yeni yeni popüler olan bir türdür. Kinoa aynı zamanda yüksek ve kaliteli yeşil ot ve tohum verimi nedeniyle hayvan yemi olarak da kullanılabilmektedir (Tan ve Yöndem, 2013; Önkür ve Keskin, 2019a; Önkür ve Keskin, 2019b; Temel ve Keskin, 2019a; Temel ve Keskin, 2019b).

Bu araştırma ile, ekstrem toprak ve iklim şartlarına dayanıklı olarak kinoa bitkisinin farklı sıra aralığındaki verim ve bazı verim ögeleri belirlenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırmada sulu şartlarda yürütülen bir araştırmada kuru madde verimi yüksek bulunan Cherry Vanilla ve Read Head çeşitleri kullanılmıştır (Tan ve Temel, 2017). Çalışma, 2021 yılında Iğdır Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi deneme sahasında (39° 55' 43.59" K, 45° 05' 42.63" D) 1 yıl süre ile sulu şartlarda yürütülmüştür (Şekil 1). Denemenin yürütüldüğü döneme ait uzun yıllar ortalama sıcaklık 17.24 °C, yağış miktarı 152.1 mm ve nispi nem %49.92 olarak

ölçülmüştür (Çizelge 1). Araştırmanın yapıldığı 2021 yılında ise bu değerler sırasıyla 20.02 °C, 129.9 mm ve %45.28 olarak ölçülmüştür. Uzun yıllardaki iklim verileri ile kıyaslandığında, denemenin kurulduğu yıldaki sıcaklık yüksek olurken, yağış ve nem miktarı ise düşük olmuştur.



Şekil 1. Deneme alanı

Çizelge 1. Araştırma alanının bazı iklim verileri (MGM, 2021)

| Aylar | Ortalama sıcaklık (°C) | | Ortalama nispi nem (%) | | Toplam yağış miktarı (mm) | |
|-----------------|------------------------|-------|------------------------|-------|---------------------------|-------|
| | 2021 | UYO** | 2021 | UYO* | 2021 | UYO* |
| Mart | 7.4 | 6.8 | 55.3 | 52.9 | 43.4 | 22.1 |
| Nisan | 17.4 | 13.3 | 44.0 | 51.1 | 15.9 | 36.2 |
| Mayıs | 21.1 | 17.6 | 46.7 | 53.2 | 39.5 | 49.1 |
| Haziran | 26.8 | 22.4 | 34.4 | 47.3 | 0.5 | 30.3 |
| Temmuz | 27.4 | 26.1 | 46.0 | 45.1 | 30.6 | 14.4 |
| Top/Ort. | 20.02 | 17.24 | 45.28 | 49.92 | 129.9 | 152.1 |

**Uzun Yıllar Ortalaması (1970-2021)

Denemenin kurulduğu alanda 3 farklı noktadan ve 30 cm derinlikten alınan toprak numunesinden yapılan analiz sonucunda, toprağın tekstürü “killi-tınlı”, hafif alkali ve tuzsuz sınıfta olduğu belirlenmiştir. Elverişli potasyum miktarı “yeterli”, organik madde miktarı “çok az”, elverişli fosfor miktarı “az” ve toprağın kireçli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Araştırma alanı topraklarının bazı özellikleri

| Toprak Özellikleri | Sonuç | Durum |
|--------------------|-------|--------------|
| Saturasyon (%) | 54 | Killi-tınlı |
| pH | 7.49 | Hafif alkali |
| EC (dS/m) | 3.44 | Tuzsuz |
| Tuz (%) | 0.12 | Tuzsuz |
| Kireç (%) | 1.32 | Kireçli |
| Organik madde (%) | 0.61 | Çok az |
| Fosfor (kg /da) | 3.17 | Az |
| Potasyum (kg /da) | 166 | Yüksek |

*Araştırma alanına ait toprak numunesinin analizleri Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Toprak ve Bitki Besleme Laboratuvarında yapılmıştır.

Metot

Deneme alanında toplamda, parsellerin uzunluğu 4 m, genişliği ise 2.1 metre ($4 \times 2.1 = 8.4$) 8.4 m^2 olacak şekilde 24 parsel hazırlanmıştır. Parsellerde 1.5 m ve bloklarda ise 2 m boşluk bırakılmıştır. Çalışma toplamda ($16 \times 26.6 = 425.6$) 425.6 m^2 'lik bir alanda yürütülmüştür. Kinoa çeşitleri 10 cm sıra üzeri mesafede olmak üzere 17.5, 35.0, 52.5, 70.0 cm sıra aralıklarında ekimler yapılmıştır. Deneme

faktöriyel deneme düzeninde tesadüf bloklara göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Her bir parsel ekim yapılmadan önce saf 9 kg /da P₂O₅ (%42'lik TSP) ve 7.5 kg /da N (%21'lik Amonyum sülfat) gübresi atılmış ve gübrelerin tırmık yardımıyla toprağa karıştırılması sağlanmıştır (Temel ve Şurgun, 2019). Bitkiler 50 cm boya ulaştığında ise dekara 7.5 kg N (%21'lik Amonyum sülfat) gübresi ilave olarak uygulanmış ve el çapası yardımıyla gübrenin toprağa karıştırılması sağlanmıştır. Sulama işlemi nem ölçme cihazı ile topraktaki nem miktarı belirlenerek toprak bünyesindeki faydalı suyun %50'si tüketildiğinde yağmurlama sulama yöntemi tarla kapasitesine ulaşınca kadar sulanarak gerçekleştirilmiştir. Hasat olgunluğuna (tam çiçeklenme) ulaşan kinoa bitkileri kenar tesirleri (parsel başlarında 50 cm, parsel başlarında birer sıra) bırakıldıktan sonra 5 cm toprak seviyesinde hasat edilmiş ve aşağıda belirtilen özellikler ölçülmüştür (Temel ve Yolcu, 2020).

Bitki boyu (cm): Hasat döneminde, hasat edilen bitkiler içerisinde rastgele seçilen 10 bitkinin toprak seviyesinin 5 cm yukarisından olmak üzere bitki boyları "cm" cinsinden ölçülmüştür.

Sap kalınlığı (mm): Parsellerde hasat edilen 10 bitkinin alt kısımlarında kumpas ile sap mm olarak ölçülmüştür.

Yaprak, sap ve salkım oranları (%): Hasat alanında, topraktan 5 cm yükseklikte biçilen 10 bitkinin yaprak, sap ve salkımları birbirinden ayrılmıştır. Yaprak, sap ve salkım kısımları ayrı ayrı tartıldıktan sonra toplam ağırlığına oranlanarak belirlenmiştir.

Yaş ot verimi (kg /da): Parsel kenar tesiri bırakıldıktan sonra tüm bitkiler orakla biçilmiş ve hassas terazi kullanılarak bitkilerin yaş ağırlıkları tartılmıştır. Biçilen bitkilerin yaş ağırlıklarından yararlanılarak dekadaki yaş ot verimi "kg" cinsinden hesaplanmıştır.

Araştırmada elde edilen sonuçlar faktöriyel deneme düzenine göre tesadüf bloklarında göre JMP 5.0.1 istatistik programına göre varyans analizleri yapılmış, faktörlerden önemli çıkan ortalamaların LSD testine göre gruplandırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bitki Boyu

Araştırmada çeşit ve çeşit x sıra aralığı interaksiyonunun bitki boyu üzerine etkisi önemli (P<0,01) bulunurken, sıra aralığının etkisi ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 3).

Sulu koşullarda ekilen kinoa bitkilerinin bitki boyları sırasıyla Cherry Vanilla çeşidinde 101.1 cm, Read Head çeşidinde ise 105.3 cm olarak elde edilmiştir. Mevcut çeşitlerle yapılan bir çalışmada Çağlayan (2021), Cherry Vanilla çeşidini bitki boyunu 90.80, Read Head çeşidinin bitki boyunu ise 106.67 olarak bildirmiştir. Curti *et al.* (2012), 34 farklı kinoa popülasyonu kullanarak Arjantin'in kuzey bölgesinde yaptığı çalışmada bitki boylarını incelemeye almış ve popülasyonlar arası önemli derecede farklılıklar olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada bitki boylarında 23.2 cm ile 181.0 cm arasında olduğu bildirilmiştir. Iğdır şartlarında yapılan bir çalışmada kinoa çeşitlerinin bazı verim ve kalite parametreleri incelenmiş ve bitki boyları 90.3 cm ile 149.6 cm arasında olduğu bildirilmiştir (Tan ve Temel, 2017). Bu veriler bu çalışmada elde edilen bulguları desteklemektedir.

Sıra aralığının bitki boyu üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur. 17.5, 35, 52.5, 70.0 cm sıra aralığı mesafelerde ekilen kinoaalarda bitki boyları sırasıyla 101.4, 103.1, 103.4 ve 104.7 cm olarak elde edilmiştir (Çizelge 3). Bitki boyunun artması ya da azalması durumu birçok farklı etmene bağlı olabilir. Nitekim kinoa bitkisi üzerine yapılan araştırmalarda bitki boyunun kullanılan çeşide, yetiştirme ortamının koşullarına, ekim sıklığına bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Risi and Galwey, 1991).

Çizelge 3. Farklı sıra aralığındaki kinoa çeşitlerinin verim ve bazı verim ögeleri değerleri

| Çeşit (Ç) | Bitki Boyu (cm) | | | | Çeşit Ort. |
|------------------------|------------------|------------|--------------|----------|------------|
| | Sıra Aralığı (S) | | | | |
| | 17.5 | 35 | 52.5 | 70 | |
| Cherry Vanilla | 104.7 | 96.5 | 99.1 | 104.0 | 101.1 b |
| Red Head | 98.2 | 109.7 | 107.7 | 105.5 | 105.3 a |
| Sıra Aralığı Ort. | 101.4 | 103.1 | 103.4 | 104.7 | |
| F değeri ve önemlilik | S: 1.46 öd | Ç: 14.11** | SxÇ: 14.74** | | |
| Ana Sap Kalınlığı (mm) | | | | | |
| | 17.5 | 35 | 52.5 | 70 | |
| Cherry Vanilla | 9.7 | 11.1 | 11.7 | 12.3 | 11.2 |
| Red Head | 8.8 | 11.6 | 12.2 | 12.4 | 11.2 |
| Sıra Aralığı Ort. | 9.2 c | 11.3 b | 11.9 a | 12.4 a | |
| F değeri ve önemlilik | S: 69.37** | Ç: 0.06 öd | SxÇ: 3.63* | | |
| Yaprak Oranı (%) | | | | | |
| | 17.5 | 35 | 52.5 | 70 | |
| Cherry Vanilla | 43.1 | 42.3 | 41.7 | 41.1 | 42.0 a |
| Red Head | 41.7 | 40.4 | 40.2 | 40.5 | 40.7 b |
| Sıra Aralığı Ort. | 42.4 a | 41.3 b | 40.9 b | 40.8 b | |
| F değeri ve önemlilik | S: 5.53** | Ç: 18.75** | SxÇ: 0.79 öd | | |
| Sap Oranı (%) | | | | | |
| | 17.5 | 35 | 52.5 | 70 | |
| Cherry Vanilla | 46.7 | 46.9 | 46.7 | 48.0 | 47.1 b |
| Red Head | 47.8 | 49.1 | 48.8 | 48.5 | 48.5 a |
| Sıra Aralığı Ort. | 47.2 | 48.0 | 47.7 | 48.2 | |
| F değeri ve önemlilik | S: 1.32 öd | Ç: 16.36** | SxÇ: 1.22 öd | | |
| Salkım Oranı (%) | | | | | |
| | 17.5 | 35 | 52.5 | 70 | |
| Cherry Vanilla | 10.1 | 10.7 | 11.6 | 10.9 | 10.8 |
| Red Head | 10.4 | 10.4 | 10.9 | 10.9 | 10.6 |
| Sıra Aralığı Ort. | 10.2 | 10.5 | 11.2 | 10.9 | |
| F değeri ve önemlilik | S: 2.12 öd | Ç: 0.30 öd | SxÇ: 0.50 öd | | |
| Yaş Ot Verimi kg/da | | | | | |
| | 17.5 | 35 | 52.5 | 70 | |
| Cherry Vanilla | 8641.2 | 4970.8 | 3399.5 | 3078.8 | 5022.5 b |
| Red Head | 9448.3 | 5436.3 | 4301.1 | 4012.3 | 5799.5 a |
| Sıra Aralığı Ort. | 9044.7 a | 5203.5 b | 3850.3 c | 3545.5 d | |
| F değeri ve önemlilik | S: 1051.48** | Ç: 99.37** | SxÇ: 1.89 öd | | |

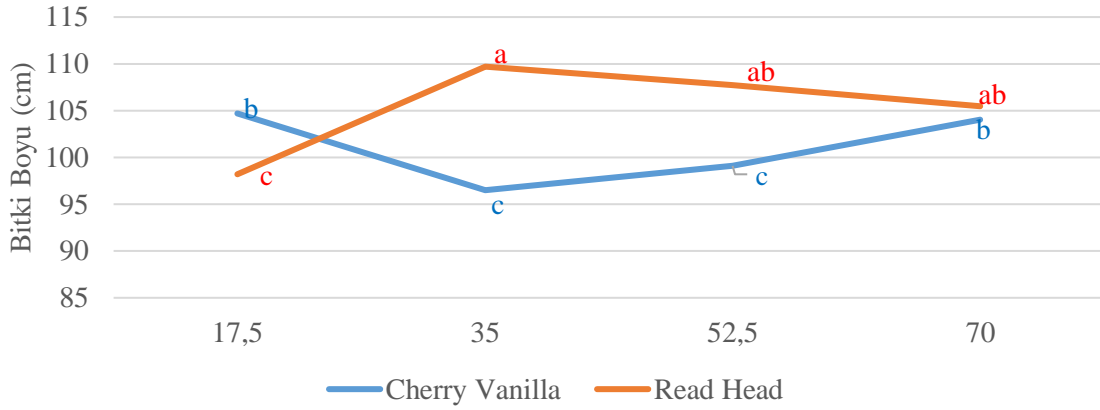
Aynı satır ve sütunda aynı harflerle gösterilen veriler arasında fark önemli değildir. *p>0.05, **p>0.01

Çeşit x sıra aralıkları interaksiyonuna 17.5 cm'ye göre 35 cm sıra aralığı mesafede yapılan ekimlerde Cherry Vanilla çeşidinin bitki boyunda azalma görülürken, Red Head çeşidinin bitki boyu artış göstermiştir. Ayrıca 35.0 cm sıra aralığından sonra yapılan ekimlerde Cherry Vanilla çeşidinde bitki boyu artarken, Red Head çeşidinde bitki boyu azalmıştır. Bitki boyu açısından çeşitlerin sıra aralıklarına farklı tepki vermesi interaksiyonun önemli çıkmasına neden olmuştur (Şekil 2). Bu durumun çeşidin genetik özelliklerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ana Sap Kalınlığı

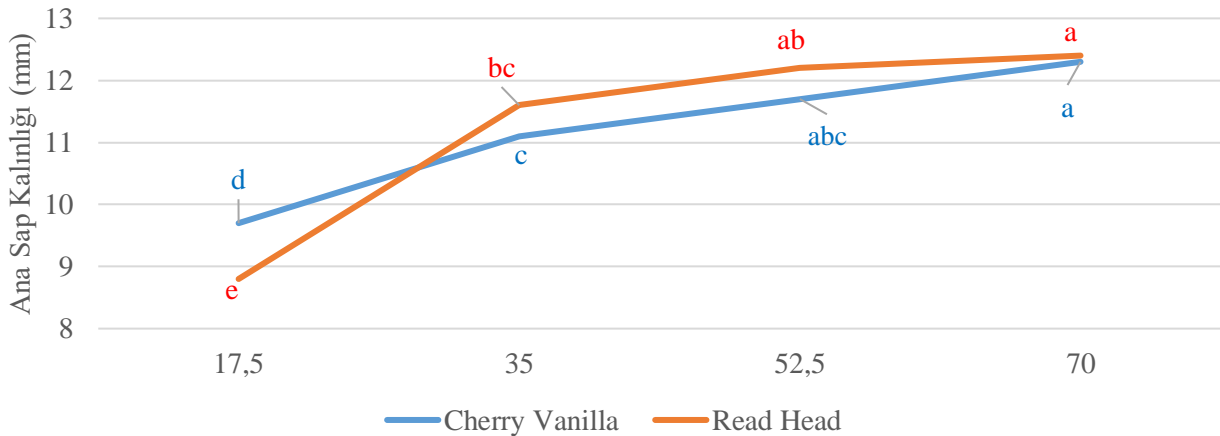
Sıra aralığının ana sap kalınlığına etkisi P<0,01 ihtimal seviyesinde, çeşit x sıra aralığı etkisi P<0,05 ihtimal seviyesinde önemli olmuştur. Çeşidin ise ana sap kalınlığı üzerine etkisinin önemli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 3).

Sıra arası mesafeye bağlı olarak ana sap kalınlıkları 12.4 mm ve 9.2 mm arasında değişmiştir. En yüksek sap kalınlığı 52.5 ve 70.0 cm sıra aralığında yetiştirilen bitkilerde görülmüştür (Çizelge 3). Konu ile ilgili olarak Temel ve Keskin (2019a), kinoa bitkisinden yüksek sap kalınlığını 52.5, 70.0 ve 35.0 cm sıra arası mesafelerinde elde ettiklerini ve bu verilerin aynı istatistik grupta yer aldıklarını bildirmişlerdir. Daha önce yapılan bu araştırmalar mevcut çalışmayı destekler niteliktedir. Yapılan çalışmadan elde edilen istatistik verilerine göre sıra aralığı mesafesi arttıkça ana sap kalınlığının arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durumun bitki sıklığı azaldıkça ortam koşullarından faydalanma oranının artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim geniş sıra arası mesafede yetişen bitkilerde sap kalınlığının daha fazla olduğunu ifade edilmiştir (Risi and Galwey, 1991).



Şekil 2. Bitki boyu üzerine çeşit x sıra aralığı interaksiyonunun etkileri

Çeşit ve sıra aralığı interaksiyonu incelendiğinde 17.5 cm'den sonra yapılan ekimlerde sıra aralığı mesafe arttıkça her iki çeşidin de ana sap kalınlığında artış olduğu görülmüştür, ancak bu artış Read Head çeşidinde Cherry Vanilla çeşidine göre daha yüksek olmuştur. Sıra aralığı 52.5 cm olduğunda her iki çeşit benzer tepki vermiş, ancak sıra arası 70 cm'ye çıkarıldığında bu kez Cherry Vanilla çeşidinde sap kalınlığı Read Head çeşidine kıyasla daha fazla artmıştır. Diğer bir ifade ile ana sap kalınlığı bakımından çeşitler, farklı ekim sıklıklarına farklı tepkiler göstermiş ve bu interaksiyonun oluşmasına neden olmuştur (Şekil 3). Bu durumun genetik olarak çeşitlerin ortam koşullarından faydalanma oranlarının farklılık göstermesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.



Şekil 3. Ana sap kalınlığı üzerine çeşit x sıra aralığı interaksiyonunun etkileri

Yaprak Oranı

Elde edilen veriler incelendiğinde çeşit ve sıra aralığının yaprak oranı üzerine etkisi önemli bulunurken, bunların interaksiyonunun yaprak oranı üzerine etkisinin önemsiz olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 3).

Yapılan çalışmada Cherry Vanilla ve Read Head çeşitlerinin ortalama yaprak oranları sırasıyla %42.0 ve %40.7 bulunmuştur. Tan ve Temel (2017), 14 farklı kinoa çeşidini kullanarak yürüttükleri bir çalışmada Cherry Vanilla'nın yaprak oranını %24.2 ve Red Head çeşidinin ise yaprak oranı %21.7 olarak bildirmişlerdir. Bu değerlerin bu çalışmaya göre daha düşük oranda olduğu görülmüştür. Bu durum çeşitlerin çevre şartlarına, agronomik uygulamalardaki farklılıklara karşı farklı tepkilerinden kaynaklanmış olabilir.

Kinoa bitkisinin 17.5, 35.0, 52.5, 70.0 cm sıra aralıklarında yaprak oranları sırasıyla %42.4, %41.3, %40.9 ve %40.8 olmuştur. Sıra aralığı mesafe arttıkça, yaprak oranının azaldığı görülmüştür. Bu durumun, bitki sıklığı arttıkça zayıf ve aşırı dallanmanın buna paralel olarak da yaprak oranının

artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Konu ile ilgili Temel ve Keskin (2019a), yaptıkları araştırmada en yüksek yaprak oranını %43 olarak sırasıyla 70 cm ve 17.5 cm sıra aralığında ekilen kinoalarda, en düşük yaprak oranını ise %40 olarak 52.5 ve 35 cm sıra aralığında ekilen kinoalarda tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırma verileri incelendiğinde birim alandaki bitki sayısı azaldıkça sap kalınlığının dolayısıyla sap oranının arttığı görülmüştür. Buna paralel olarak da yaprak oranının düştüğü görülmüştür.

Sap Oranı

Farklı sıra aralıklarında ekilen kinoa çeşitlerinin sap oranı yönünden çeşitler arasındaki farklılık %1 ihtimal seviyesinde önemli bulunmuştur. Sıra aralığı ve çeşit x sıra arası etkileşimi ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 3).

Kinoanın Cherry Vanilla ve Read Head çeşitlerinden elde edilen ortalama sap oranları sırasıyla %47.1 ve %48.5 olarak hesaplanmıştır. Konu ile ilgili daha önce yapılan bir çalışmada Çağlayan (2021), Cherry Vanilla çeşidinin sap oranını %36.46, Read Head çeşidinin sap oranını ise %38.60 olarak bildirmiştir. Nitekim çeşitlerin sap oranı üzerine etkilerinin önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu durumun çeşitlerin genetik özelliklerinden ve yetiştirme ortamına karşı verdikleri tepkilerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Salkım Oranı

Çalışmada çeşit, sıra aralığı ve bunların etkileşiminin salkım oranı üzerine etkisinin önemli bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 3). Cherry Vanilla ve Read Head çeşitlerinin salkım oranları sırasıyla %10.8 ve %10.6 olarak bulunmuştur.

Yaş Ot Verimi

Çalışmada çeşit ve sıra aralığının yaş ot verimi üzerine etkisi %1 ihtimal seviyesinde önemli bulunurken çeşit x sıra aralığı etkileşimi ise önemli bulunmamıştır (Çizelge 3).

Kullanılan Cherry Vanilla çeşidinden 5022.5 kg /da yaş ot verimi alınmıştır. Bu rakam Read Head çeşidinde ise 5799.5 kg /da olarak bulunmuştur. Bu durumun çeşitlerin genetik özelliklerine, çevresel faktörlere ve agronomik çalışmalara göre değişiklik gösterebileceği düşünülmektedir.

Araştırmada 17.5, 35, 52.5 ve 70 cm sıra aralıklarında ekilen kinoa çeşitlerinde, sıra aralığına bağlı olarak elde edilen yaş ot verimleri sırasıyla 9044.7, 5203.5, 3850.3 ve 3545.5 kg /da olarak bulunmuştur (Çizelge 3). Bu istatistiksel analize göre bitki sıklığı arttıkça yaş ot verimi buna paralel olarak artmıştır. Temel ve Keskin (2019a), yaş ot verimi için 17.5 cm sıra aralığında ekim yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu durum bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Dar sıra aralığında daha fazla yaş ot verimi alınması, birim alanda daha fazla bitki olması ve daha çok yaprak oranına sahip olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

SONUÇ

Araştırmada, sulu şartlarda farklı sıra aralığı mesafesinin verim ve bazı verim öğeleri üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara göre, dar sıra aralığının kinoaların verim parametrelerini daha olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Red Head çeşidinin yaş ot verimi, yaprak oranı, sap oranı Cherry Vanila çeşidine göre daha yüksek olmuştur. Sıra aralığı genişledikçe yaş ot veriminde ve yaprak oranında azalmalar olmuştur. Red Head çeşidinin dar sıra aralığında ekilmesi durumunda daha yüksek yaş ot ve yaprak oranı elde edilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Iğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin desteğiyle 2020-FBE-A04 proje numarasıyla gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Curti, R.N., Andrade, A.J., Bramardi, S., Vela'squez, B., & Bertero, H.D. (2012). Ecogeographic structure of phenotypic diversity in cultivated populations of quinoa from northwest Argentina. *Annals of Applied Biology*, 160(2), 114-125. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2011.00524.x>.
- Çağlayan, B. (2021). Bingöl Koşullarında Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Genotiplerinin Adaptasyonu Üzerine Bir Araştırma. (Yüksek Lisans Tezi), Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2021. S: 47
- Geerts, S., Raes, D., Garcia, M., Taboada, C., Miranda, R., Cusicanqui, J., Mhizhac, T., & Vacher, J. (2009). Modeling the potential for closing quinoa yield gaps under varying water availability in the Bolivian Altiplano. *Agricultural Water Management*, 96(11), 1652-1658.
- Gözügül, A. ve Öztürk, İ. (2008). Silajlık Mısır Tarımı Ve Silaj Yapımı. T.C. Samsun Valiliği, İl Tarım Müdürlüğü, Samsun.
- Harmanşah, F. (2018). Türkiye'de Kaliteli Kaba Yem Üretimi Sorunlar Ve Öneriler. *TÜRKTOB Dergisi*, (25), 9-13
- Jacobsen, S.E. (2003). The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International*, 19(1-2), 167-177.
- Jacobsen, S. E., Monteros, C., Christiansen, J. L., Bravo, L. A., Corcuera, L. J., & Mujica, A. (2005). Plant Responses of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to Frost at Various Phenological Stages. *European Journal of Agronomy*, 22, 131-139.
- Keskin B, Temel T, & Tohumcu S. A. 2023. Determination of forage yield performance of different *Chenopodium quinoa* cultivars in saline conditions. *Zemdirbyste-Agriculture*, 110(2), 149-156. DOI 10.13080/z-a.2023.110.018.
- MGM, (2021). Başbakanlık DMİ Genel Müdürlüğü Meteoroloji Bültenleri. Ankara.
- Önkür, H. ve Keskin, B. (2019a). Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)'nın Tohum Verimi ve Bazı Bitkisel Özellikleri Üzerine Sıra Üzeri ve Sıra Arası Mesafelerinin Etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(Ek Sayı 1), 51-59.
- Önkür, H. ve Keskin, B. (2019b). Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)'nın Tohum ve Saplarındaki Bazı Yem Kalite Özelliklerine Sıra Arası ve Sıra Üzeri Mesafelerinin Etkileri. UMTEB 6. Uluslararası Mesleki ve Teknik Bilimler Kongresi, 11-12 Nisan 2019, Iğdır Üniversitesi, Iğdır – Türkiye. ISBN – 978-605-7875-36-5, pp: 271-278.
- Razzaghi, F. (2011). Acclimatization and Agronomic Performance of Quinoa Exposed to Salinity, Drought and Soil-Related Abiotic Stresses. Ph.D. Thesis. Department of Agroecology Science and Technology. Aarhus University. pp:1-124.
- Risi, J. ve Galwey, N. W. (1991). Effects of Sowing Date and Sowing Rate on Plant Development and Grain Yield of Quinoa (*Chenopodium quinoa*) in a Temperate Environment. *The Journal of Agricultural Science*, 117(3), 325-332.

- Tan, M. ve Temel, S. (2017). Studies on the Adation of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to Eastern Anatolia Region of Turkey. *AGROFOR International Journal*, 2(2), 3339.
- Tan, M. ve Temel, S. (2019). Her Yönüyle Kinoa Önemi, Kullanılması ve Yetiştiriciliği. Iksad Publishing House, Ankara.
- Tan, M. ve Yöndem, Z. (2013). İnsan ve Hayvan Beslenmesinde Yeni Bir Bitki: Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 25(B), 62-66.
- Temel, I. ve Keskin, B. (2019a). Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)'nın Ot Verimi ve Bazı Verim Unsurlarına Farklı Sıra Üzeri ve Sıra Arası Mesafelerin Etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 522-532.
- Temel, I. ve Keskin, B. (2019b). Farklı Sıra Arası ve Sıra Üzeri Mesafelerinin Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)'nın Besin İçeriğine Etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 5(1), 110-116.
- Temel, S. ve Şurgun, N. (2019). Farklı Dozlarda Uygulanan Azot ve Fosforlu Gübrelemenin Kinoa'nın Ot Verimi ve Kalitesine Etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 1785-1796.
- Temel, S. ve Yolcu, S. (2020). The effect of different sowing time and harvesting stages on the herbage yield and quality of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Turkish Journal of Field Crops*, 25(1), 41-49.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu, 2016 Yılı Bitkisel Üretim İstatistikleri. Tarım İstatistikleri. TC Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu, 2022 Yılı Hayvan Üretim İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-2022-49682> (Erişim tarihi: 12.03.2023)

Atıf İçin: Boydak, E., Yolcu, M. S. ve Ekin, F. (2024). Farklı Ekim Zamanlarının Aspir Bitkisinde Verim Ve Verim Karakterleri Üzerine Etkileri. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 922-930.

To Cite: Boydak, E., Yolcu, M. S. & Ekin, F. (2024). The Effect of Sowing Times on Yield and Yield Characteristics of Different Safflower Varieties. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 922-930.

Farklı Ekim Zamanlarının Aspir Bitkisinde Verim Ve Verim Karakterleri Üzerine Etkileri

Erkan BOYDAK¹, Muhammed Said YOLCU^{2*}, Filiz EKİN¹

Öne Çıkanlar:

- Çeşit seçimi
- Ekim zamanı tespiti
- Tane verimi

Anahtar Kelimeler:

- Bingöl
- Aspir çeşitleri
- Ekim zamanı
- Verim
- Agronomi

ÖZET:

Bu araştırmanın amacı, belirli aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerinin tarımsal özelliklerine farklı ekim zamanlarının etkisini incelemektir. Çalışma, 2015 ve 2016 yıllarında Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Deneme Tarlası'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışma, üç tekrarlamalı “şansa bağlı bloklar deneme deseni” kullanılarak kurulmuştur. Çalışmada; dört farklı ekim zamanında üç farklı aspir çeşidi kullanılmıştır. Araştırmada bitki boyu, bitki başına dal sayısı, bitki başına tabla sayısı, tabla başına tohum sayısı, bin tohum ağırlığı, dekara verim, yağ oranı ve protein oranı dahil olmak üzere çeşitli tarımsal özellikler incelenmiştir. Bulgulara göre, Dinçer çeşidi hem ilk yılda 89.1 kg/da ile hem de ikinci yılda 75.50 kg/da ile dekara verim bakımından en iyi sonuçları göstermiştir. Ekim zamanına gelince, ilk yılın ilk ekim zamanının ve ikinci yılın üçüncü ekim zamanının diğer ekim zamanlarına göre dekara verim açısından daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

The Effect of Sowing Times on Yield and Yield Characteristics of Different Safflower Varieties

Highlights:

- Sowing dates determination
- Safflower varieties selection
- Seed yields

Keywords:

- Bingöl
- Safflower varieties
- Sowing dates
- Yield
- Agronomy

ABSTRACT:

The purpose of this research was to examine the impact of various sowing times on the agronomic traits of specific safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties. The study was conducted at the Experimental Field of Bingol University Faculty of Agriculture in 2015 and 2016. The study was set up using a “randomized blocks trial design” with three replications. It involved the use of four different sowing times and three distinct safflower varieties. Several agronomic characteristics were analyzed in the research, including plant height, number of branches per plant, number of leaves per plant, seed count per leaf, thousand seed weight, yield per decar, oil content, and protein content. Based on the findings, the Dinçer variety exhibited the most favorable results concerning yield per decara in both years, achieving 89.1 kg/ha in the first year and 75.50 kg/ha in the second year. Regarding sowing time, it was determined that the first sowing time in the first year and the third sowing time in the second year yielded better results in terms of yield per decare compared to other sowing times.

¹Erkan BOYDAK ([Orcid ID: 0000-0002-3466-5356](https://orcid.org/0000-0002-3466-5356)), Filiz EKİN ([Orcid ID: 0009-0009-8461-2293](https://orcid.org/0009-0009-8461-2293)), Bingöl University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Bingöl, Türkiye

^{2*}Muhammed Said YOLCU ([Orcid ID: 0000-0002-5304-7342](https://orcid.org/0000-0002-5304-7342)), Sakarya University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Sakarya, Türkiye

* **Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Muhammed Said YOLCU, e-mail: musayol65@gmail.com

The first year of this study was prepared using the data from Filiz EKİN's Master's thesis.

INTRODUCTION

The global population increase is accompanied by an increasing demand for food worldwide. This situation requires prioritizing the increase in plant-based production in nutrition. Additionally, the growing deficit and dependency on oils necessitate the increase in oilseed production and diversity. According to the Food and Agriculture Organization (FAO), the total global oilseed production in 2020 was reported to be 610.1 million tons, showing a 3.8% increase compared to 2019 (FAO 2021). In our country, the production area allocated for oilseeds in 2020 was approximately 8.9 million hectares, and the production quantity was around 3.5 million tons. Furthermore, the production area allocated for safflower in the same year was about 151 thousand hectares, with a production quantity of around 21 thousand tons. However, it has been reported that there have been decreases in both the production area and quantity of safflower over the past six years (2015-2020) (Turkish Statistical Institute [TUIK] 2021).

Safflower, a member of the Asteraceae=Compositae (daisy) family, belongs to the *Carthamus* genus. There are 25 species of the *Carthamus* genus worldwide (Singh & Nimbkar, 2006). Although *Carthamus tinctorius*, the species of safflower, does not have a natural distribution area in Turkey, a total of 10 taxa (8 species and 2 subspecies) belonging to the *Carthamus* genus are found in the country. Safflower cultivation in our country focuses only on the *Carthamus tinctorius* species (Arslan et al., 2010). Safflower farming in Turkey is mainly carried out in the Central Anatolia, Aegean, and Mediterranean regions. However, safflower farming is less common in the Eastern and Southeastern Anatolia regions. The provinces with the highest seed yields in our country are Adana (200 kg/ha), Burdur (192 kg/ha), Çanakkale (185 kg/ha), Antalya (181 kg/ha), and Muş (180 kg/ha).

Safflower is an annual plant that can grow up to approximately 100 cm in height. It has broad leaves and flowers in colors such as yellow, orange, red, white, and cream. It can exist in both thornless and thorny forms. It is also known by other names such as false saffron, or dyer's saffron. Thorny forms of safflower have a higher oil content but lower flower quantity. The safflower plant is rich in oleic and linoleic fatty acids, ranging from 30% to 50% in its seeds. It is also suitable for cultivation in arid regions (Babaoğlu, 2005). The vegetative parts of safflower are consumed in dishes like curry, salads, and soups in India and Pakistan. The fresh or dried seedlings and seed husks are used as silage, feed, and fodder for animal nutrition. Harvested safflower plants are used as substrates for biogas production. In Latin America, Japan, and Western Europe, safflower is valued as a cut flower (Adamska & Biernacka, 2021; Cañçelik, 2021; Gomashe et al., 2021).

The planting time significantly affects the germination, seedling growth processes, plant development, yield, and quality parameters of crops. If the correct planting time is not determined, the plant emergence can be irregular, and sometimes plants may fail to emerge at all. (Tekin et al., 2021). Early planting, as in other crops, can significantly increase the yield of safflower. Safflower is more tolerant to cold compared to other oilseed crops, so it can be planted in early spring or in the fall when the winter months are not extremely cold in temperate regions (Baydar and Erbaş, 2007). Early planting is particularly important under dry conditions (İnan, 2020).

Determining the correct planting time based on local conditions, climate, and the need of the crop is considered a key element for success in crop cultivation in terms of plant development, seed yield, quality, disease, and pest resistance. This study was conducted to explore the potential of safflower cultivation in irrigable lands in Bingöl Plain. The experiment was established with three different safflower varieties at four different planting times. The aim was to determine the most suitable variety and planting time from an agronomic perspective.

MATERIALS AND METHODS

In this study, Balcı, Dinçer, and Remzibey safflower varieties were obtained from the Geçit Kuşağı Agricultural Research Institute in Eskişehir as the materials. The study was conducted to assess the potential of Balcı, Dinçer, and Remzibey safflower varieties cultivation in irrigable lands in Bingöl Plain.

Bingöl province experiences a continental climate. The summer months are dry and hot, while the winter months are cold and harsh. In the spring months, although the temperature starts to rise, the mountainous areas surrounding the province can be cooler compared to the plain due to their higher elevation (Anonymous, 2011). The climate data for the experimental area is shown in Table 2.

In the autumn period, the experimental area was plowed, and in the spring period, shallow tillage was performed using a cultivator. Then, rotavators were used, followed by harrowing to prepare the field for planting. The research was conducted in the experimental field belonging to the Faculty of Agriculture at Bingöl University in the years 2015 (1st year) and 2016 (2nd year). The experiment was set up in a randomized blocks trial design with three replications. The plots were calculated to be 15 m², with a length of 5 m and a width of 3 m. Planting was done in four rows per plot, with a row spacing of 10 cm and an inter-row spacing of 20 cm. The planting process was carried out manually, with the seeds being sown at an average depth of 3-4 cm in the rows determined by markers. The Sowing time (ST) was arranged as the main plots, while the varieties were arranged as subplots. In 2015, the planting operations were conducted on May 8th (1st planting time), May 14th (2nd planting time), May 20th (3rd planting time), and May 25th (4th planting time). In 2016, the planting was carried out on May 6th (1st ST), May 12th (2nd ST), May 19th (3rd ST), and May 26th (4th ST).

The soil samples taken from different points within the test field at depths of 0-30 cm have been analyzed at Bingöl University Faculty of Agriculture, Soil Analysis Laboratory. The analysis results are provided in Table 1.

Table 1: Physical and chemical analysis results of the soil in the test field

| Depth (cm) | Texture | pH | Salt (%) | Organic Matter (%) | P ₂ O ₅ (kg/da) | K ₂ O (kg/da) | Lime (%) |
|------------|---------|------|----------|--------------------|---------------------------------------|--------------------------|----------|
| 0-30 cm | Loamy | 6.57 | 0.031 | 1.905 | 7.91 | 24.51 | 0.36 |

According to the soil analysis results provided in Table 2, it can be observed that the soil in the test field has a pH value close to neutral, slightly acidic, without salinity problems, poor in organic matter, low in lime content, sufficient in phosphorus, and low in potassium levels.

In both experimental years, before sowing, a basal fertilizer consisting of 3 kg of pure nitrogen, 6 kg of phosphorus, and 1.5 kg of potassium in the form of NPK (15-15-15) compound fertilizer and DAP (18-46) fertilizer was uniformly applied to the test field manually. As a top dressing, 7 kg of pure ammonium nitrate (AN, %33) fertilizer per decare was used at the beginning of flowering. Hand weeding was carried out twice during the growing season. Irrigation was applied after each sowing to facilitate plant emergence. Other irrigations were applied using a drip irrigation system based on the water demand of the plants and air temperature. During harvest, the outer rows of each plot were left as border effects, and the middle two rows were used to collect data. Harvesting was done when the majority of plant leaves in the experiment were completely dried, the petals turned brown, and the heads could be manually threshed. The first-year harvest was conducted on September 1, 2015, and the second-year harvest was conducted on September 3, 2016.

Table 2: Average temperature (°C), total rainfall (mm), and relative humidity (%) values for Bingöl province where the experiment was conducted in 2015, 2016, and long-term

| Months | Long Years | 2015 | 2016 | Long Years | 2015 | 2016 | Long Years | 2015 | 2016 |
|----------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| January | -2.5 | 1.8 | -2.8 | 154.0 | 147.2 | 257.8 | 73.3 | 75.1 | 75.4 |
| February | -0.9 | 1.9 | 2.5 | 137.7 | 119.8 | 95.3 | 72.2 | 74.4 | 73.3 |
| March | 4.9 | 5.5 | 7.0 | 124.1 | 155.3 | 131.0 | 64.2 | 66.9 | 60.2 |
| April | 10.9 | 10.7 | 14.0 | 103.8 | 66.7 | 46.8 | 61.2 | 60.1 | 43.4 |
| May | 16.2 | 16.4 | 16.3 | 66.8 | 21.2 | 66.2 | 55.8 | 53.9 | 57.4 |
| June | 22.6 | 22.6 | 22.3 | 18.4 | 8.1 | 34.4 | 42.5 | 38.4 | 43.5 |
| July | 27.0 | 27.4 | 26.9 | 7.3 | 0.1 | 7.0 | 36.7 | 28.1 | 43.2 |
| August | 26.8 | 27.1 | 28.1 | 5.4 | 0.6 | 0 | 36.8 | 30.8 | 28.8 |
| September | 21.3 | 23.6 | 20.1 | 16.4 | 0.4 | 29.1 | 42.2 | 30.0 | 40.3 |
| October | 14.2 | 14.4 | 15.2 | 70.3 | 18.9 | 4.4 | 58.9 | 68.6 | 43.0 |
| November | 6.5 | 14.4 | 6.4 | 91.8 | 46.2 | 53.7 | 64.7 | 56.4 | 48.0 |
| December | 0.2 | 1.3 | -2.2 | 121.8 | 219.1 | 152.6 | 70.7 | 58.6 | 73.4 |
| Total/Average | 12.3 | 13.9 | 12.8 | 917.8 | 803.6 | 878.3 | 56.6 | 53.4 | 48.8 |

In the first year of the experiment, the following parameters were examined: plant height, number of tillers per plant, number of branches per plant, number of seeds per head, thousand grain weight, yield per decare, crude oil content, and crude oil yield. In the second year of the experiment, Due to the pandemic and economic inadequacy, fat and protein ratios for 2016 could not be analyzed. The findings obtained from the research were subjected to variance analysis using the "Split-Plot Design" according to the JUMP statistical package program. Significant differences among the values were determined through the LSD (0.05) test and grouped accordingly.

RESULTS AND DISCUSSION

The experiment revealed that the first sowing time resulted in the tallest plant heights during both the initial and subsequent years of the study. In the first year, the plants reached heights ranging from 38.81 to 34.69 cm, while in the second year, they also exhibited similar growth patterns. In both years, delays in sowing time resulted in decreases in plant height. Different varieties stood out in each year. Remzibey variety stood out in the first year, while Balcı variety stood out in the second year (Table 3, 4). This is because; The climatic differences that vary from year to year and the different performances of the varieties according to these differences. The inverse relationship between plant height and sowing time is associated with the duration of vegetation and the advancement of sowing time. The elongated vegetation period resulting from the advancement of sowing time leads to an increase in plant height. Studies conducted by Yılmazlar (2008), Coşge and Kaya (2008), Koç et al. (2009), Gök and Ekin (2019), which investigated the decreases in plant height due to delays in sowing time, support our findings. The differences in plant height observed between the two years are attributed to variances in climatic conditions. According to the results obtained in the initial year of the investigation, it became apparent that the second sowing time led to the highest number of branches per plant, with an average of 4.1 branches. Additionally, when considering the interaction between the ST × V factors, the Remzibey variety exhibited the highest number of branches per plant, reaching 4.5 branches specifically during the second sowing time. In the second year's data, among the different varieties studied, the Balcı variety displayed the highest number of branches per plant, achieving an average of 3.13 branches (as seen in Table 3 and 4). The results highlight the significant influence of sowing time on the vegetative growth process of plants, directly impacting the number of branches they develop. It is clear that the timing of

sowing plays a crucial role in shaping the branching patterns and overall vegetative growth of the plants studied. After plants complete their vegetative growth and transition to the generative phase, climatic variables play an influential role. The hypothesis posits that by advancing the sowing time, there is a possibility of prolonging the vegetative phase and subsequently promoting a greater number of branches in the safflower plants. The results of studies conducted by Yılmazlar (2008), Atam (2010), Aydın (2012), Gök and Ekin (2019) support our findings.

The highest number of seeds per head in the 2015 year was obtained at the second sowing time with a value of 7.3 seeds per head. In the 2016 year, the Balcı variety had the highest value of 4.63 seeds per head (Table 3, 4). It is believed that plants that did not reach sufficient temperatures on May 8 tend to elongate their height instead of forming heads in order to provide more sunlight and warmth. When looking at the plant height values, the close values between the May 8 and May 14 sowing dates support our observation. The variations in plant height observed between years are believed to be due to climatic differences. Our findings are consistent with the research results of Nikabadi et al. (2008), Yılmazlar (2008), Koç et al. (2009), Atam (2010), and Gök and Ekin (2019).

Upon analyzing the data presented in Table 3 and 4, it becomes evident that there is a consistent reduction in the number of seeds per head as a consequence of delayed sowing time. The maximum number of seeds in the first year was observed when sowing took place at the earliest time, and in the second year, the peak was reached during the fourth sowing time, which falls within the same statistically significant group as the first sowing time.

In the initial year, the Remzibey variety displayed the highest number of seeds per head, recording 30.7 seeds per head. In the subsequent year, the Dinçer variety exhibited the highest count, with 16.13 seeds per head. This difference in seed numbers is believed to be influenced by genetic factors, as well as the shortened vegetation period caused by delayed sowing. This condition leads the plants to mature earlier and prioritize filling existing seeds rather than producing new ones.

Furthermore, variations in plant height between the years are attributed to dissimilarities in climatic conditions. The outcomes of this study align with earlier investigations conducted by Kılılı and Küçükler (2005), Yılmazlar (2008), Atam (2010), and Gök and Ekin (2019). All of these studies have consistently reported a reduction in the number of seeds per head as a consequence of delayed sowing time.

Table 3: Presents the mean values and LSD (0.05) groups for various agronomic characteristics, including Plant Height, Number of Branches per Plant, Number of Heads per Plant, Number of Seeds per head, 1000 Grain Weight, Yield per Decare, Oil Content, and Protein Content of Three Different Safflower Varieties planted at different sowing times during the year 2015

| ST/V | Plant Height (cm) | | | | Number of Branches per Plant (branch/plant) | | | |
|------------|--|---------|----------|---------|--|---------|-------------|---------|
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 35.30 | 38.80 | 42.30 | 38.81 A | 3.3 cd | 3.3 cd | 3.4 c | 3.3 B |
| 2. ST | 36.56 | 38.60 | 40.73 | 38.63 A | 4.0 ab | 3.7 bc | 4.5 a | 4.1 A |
| 3. ST | 32.00 | 32.20 | 33.30 | 32.51 B | 4.0 ab | 3.3 cd | 3.2 cd | 3.5 B |
| 4. ST | 25.10 | 23.90 | 31.50 | 26.84 C | 2.2 f | 2.8 de | 2.5 ef | 2.5 C |
| Average | 32.24 B | 33.38 B | 36.96 A | | 3.4 | 3.3 | 3.4 | |
| LSD (0.05) | Sowing Times (2.45) Variety (2.11) Int. (ns) | | | | Sowing Times (2.44) Variety (ns) | | Int. (2.12) | |
| ST/V | Number of Heads per Plant (piece/plant) | | | | Number of Heads per Plant (head/plant) | | | |
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Ort. | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 4.7 | 6.2 | 5.9 | 5.6 B | 30.8 | 34.8 | 34.7 | 33.4 A |
| 2. ST | 7.4 | 7.5 | 7 | 7.3 A | 33.3 | 30.4 | 34 | 32.6 A |
| 3. ST | 6.1 | 5.3 | 5.2 | 5.5 B | 20.2 | 28.0 | 29.7 | 26.0 B |
| 4. ST | 4.2 | 4.2 | 4.9 | 4.4 C | 24.0 | 22.7 | 24.4 | 23.7 B |
| Average | 5.6 | 5.8 | 5.8 | | 27.1 B | 28.9 AB | 30.7 A | |
| LSD (0.05) | Sowing Times (2.44) Variety (ns) Int. (ns) | | | | Sowing Times (2.44) Variety (2.11) Int. (ns) | | | |

Table 3: (Continued)

| ST/V | 1000 Seeds Weight (g) | | | | Yield per Decare (kg/da) | | | |
|------------|---|--------|----------|---------|--|--------|----------|---------|
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 38.7 | 41.2 | 40.0 | 39.9 A | 97.2 | 101.7 | 97.4 | 98.8 A |
| 2. ST | 37.8 | 38.8 | 36.9 | 37.8 AB | 86.5 | 94.9 | 89.0 | 90.1 B |
| 3. ST | 36.7 | 37.5 | 36.9 | 37.0 AB | 78.8 | 89.4 | 78.0 | 82.1 C |
| 4. ST | 34.2 | 33.8 | 34.6 | 34.2 C | 73.3 | 70.4 | 74.7 | 72.8 D |
| Average | 36.8 | 37.8 | 36.9 | | 83.9 B | 89.1 A | 84.8 B | |
| LSD (0.05) | Sowing Times (2.44) Variety (ns) Int.(ns) | | | | Sowing Times (6.11) Variety (3.85) Int. (ns) | | | |
| ST/V | Oil Ratio (%) | | | | Protein Ratio (%) | | | |
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 27.9 | 28.6 | 24.9 | 27.1 A | 23.2 | 20.4 | 20.9 | 21.5 AB |
| 2. ST | 23.7 | 23.9 | 21.5 | 23.0 B | 19.1 | 24.3 | 23.2 | 22.2 A |
| 3. ST | 20.4 | 21.6 | 17.7 | 19.9 C | 20.0 | 19.7 | 18.9 | 19.5 BC |
| 4. ST | 22.8 | 20.4 | 17.5 | 20.2 C | 20.2 | 20.5 | 19.8 | 20.2 C |
| Average | 23.7 A | 23.6 A | 20.4 B | | 20.6 | 21.2 | 20.7 | |
| LSD (0.05) | Sowing Times (2.4) Variety (2.11) Int. (ns) | | | | Sowing Times (2.44) Variety (ns) Int. (ns) | | | |

ns: non significance, ST: Sowing Times, V: Varieties, Int.: Interaction

In the first and second years of the experiment, the yield per decare was 89.1-75.50 kg/ha, respectively, and the Dinçer variety performed better than the other varieties in both years. In both years, the yield per hectare decreased with the delay in sowing dates, and the first sowing time yielded better results compared to other sowing times. The study found a decrease in seed yield as the sowing time was delayed. The variations in seed yield were mainly attributed to variety differences, but as the sowing dates progressed, drought stress began with increasing temperature and decreased rainfall. Due to insufficient time for plant development, the plants completed the growing season by producing seeds in a short period and limited quantity. The variations in plant height observed between years are believed to be due to climatic differences. The findings of Shahrokhnia and Sepaskhah (2017) and Gök and Ekin (2019), which indicate a decrease in seed yield with delayed sowing time, are in line with our study results.

Table 4: The average values and LSD (0.05) groups for Plant Height, Number of Branches per Plant, Number of Head per Plant, Number of Seeds per Head, 1000 Grain Weight, and Yield per Decare of Three Different Safflower Varieties planted at various sowing times in the year 2016 are presented in the table

| ST/V | Plant Height (cm) | | | | Number of Branches per Plant (branch/plant) | | | |
|------------|--|----------|-----------|---------|---|-----------|-----------|---------|
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 34.80 a | 35.00 a | 34.27 a | 34.69 A | 3.37 | 2.90 | 2.63 | 2.97 |
| 2. ST | 29.13 cd | 32.47 ab | 30.10 bcd | 30.57 B | 2.77 | 2.43 | 3.10 | 2.77 |
| 3. ST | 29.13 cd | 30.67 bc | 28.90 cd | 29.57 B | 3.03 | 2.27 | 3.00 | 2.77 |
| 4. ST | 29.10 cd | 29.43bcd | 27.07 d | 28.53 B | 3.33 | 2.70 | 3.10 | 3.04 |
| Average | 30.54 | 31.89 | 30.08 | | 3.13 A | 2.58 B | 2.96 A | |
| LSD (0.05) | Sowing Times (3.85) Variety (ns) Int. (ns) | | | | Sowing Time (ns) Variety (0.32) Int. (ns) | | | |
| ST/V | Number of Heads per Plant (head/plant) | | | | Number of Seeds per Head (seed/head) | | | |
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 4.90 | 4.27 | 4.47 | 4.54 | 16.83 abc | 15.77 a-d | 14.23 c-f | 15.61 A |
| 2. ST | 3.97 | 3.60 | 4.37 | 3.98 | 10.97 g | 15.93 a-d | 12.27 fg | 13.06 B |
| 3. ST | 4.40 | 3.20 | 5.00 | 4.20 | 13.50 d-g | 17.27 ab | 13.10 efg | 14.62 A |
| 4. ST | 5.23 | 3.93 | 4.63 | 4.60 | 14.67 b-f | 15.53 a-e | 17.37 a | 15.86 A |
| Average | 4.63 A | 3.75 B | 4.62 A | | 13.99 B | 16.13 A | 14.24 B | |
| LSD (0.05) | Sowing Time (ns) Variety (0.74) Int. (ns) | | | | Sowing Time (1.29) Variety (1.31) Int. (2.65) | | | |
| ST/V | 1000 Seeds Weight (g) | | | | Yield per Decare (kg/da) | | | |
| | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average | Balcı | Dinçer | Remzibey | Average |
| 1. ST | 38.12 | 39.43 | 35.04 | 37.53 | 75.69 | 67.32 | 68.63 | 70.55 |
| 2. ST | 36.63 | 38.21 | 32.53 | 35.79 | 65.67 | 79.13 | 66.38 | 70.40 |

Table 4: (Continued)

| | | | | | | | | |
|------------|------------------|---------|----------------|-----------|------------------|-------|--------------|-----------|
| 3. ST | 38.09 | 37.23 | 32.40 | 35.91 | 62.41 | 90.28 | 81.28 | 77.99 |
| 4. ST | 39.62 | 36.90 | 34.84 | 37.12 | 62.19 | 65.27 | 74.36 | 67.27 |
| Average | 38.11 A | 37.94 A | 33.70 B | | 66.49 | 75.50 | 72.67 | |
| LSD (0.05) | Sowing Time (ns) | | Variety (1.97) | Int. (ns) | Sowing Time (ns) | | Variety (ns) | Int. (ns) |

ns: non significance, ST: Sowing Times, V: Varieties, I. ST: Sowing Time, Int.: Interaction

Upon analyzing both Table 3 and Table 4 with respect to 1000 Grain Weight, a noticeable trend emerges, indicating that the 1000 grain weight diminishes as the sowing time is delayed. Notably, the measurements of 1000 grain weight exhibit superior outcomes during the first sowing time in comparison to the subsequent sowing times. This phenomenon could be attributed to the longer vegetative period of the safflower plants sown early, providing them with more time to complete seed filling, thus resulting in a higher 1000 grain weight. Atam (2010), Hatipoğlu et al. (2012), and Gök and Ekin (2019) reported significant decreases in 1000 grain weight with delayed sowing time, supporting our findings.

According to the data presented in Table 3, there is a noticeable decrease in oil content as the sowing time is postponed. Remarkably, the first sowing time exhibited the highest oil content, measuring at 27.1%. This finding suggests that delaying the sowing time may have a negative impact on the oil content of safflower seeds, with the earliest sowing time resulting in the most favorable oil content. The Balcı variety has a higher oil content of 23.7% compared to other varieties. The differences in oil content observed among the safflower varieties could be attributed to their distinct responses to various climatic factors and inherent genetic variations. These variables can significantly influence the oil accumulation in the seeds, leading to variations in oil content among the different safflower varieties. The delay in sowing time can affect critical stages of plant growth, which can negatively impact oil formation. Late planting of oil crops can result in a decrease in the fruit or seed formation period and, consequently, a decrease in oil formation. Studies have reported a decrease in oil content due to delayed sowing time by Mirshekari et al. (2013), Gök and Ekin (2019), and Baseri et al. (2022).

Regarding protein content, it was determined that the second sowing time with 22.2% is the most suitable time. Varieties and interactions did not show any statistical effect on protein content. Climatic conditions and sowing time can affect the plant's growth rate, photosynthesis activity, and nutrient uptake, thereby influencing protein synthesis and content. Keleş and Öztürk (2012) reported that during the study, the first sowing time yielded the highest protein content, with a recorded value of 22.91 kg/ha. In contrast, the fifth sowing time resulted in the lowest protein yield, with only 11.30 kg/ha being obtained. These findings indicate that the timing of sowing significantly affects the protein yield of safflower, with earlier sowing times being more favorable for obtaining higher protein content. Aydın (2012) reported a range of 12.87-23.97 kg/ha for crude protein yield, and Gök and Ekin (2019) indicated changes in protein content due to delayed sowing time.

CONCLUSION

Based on the outcomes of the two-year research, it was determined that sowing during the first week of May (first sowing time) demonstrated greater suitability concerning the examined parameters when compared to the later sowing times. These results emphasize the significance of the optimal sowing period for achieving better agronomic characteristics in safflower cultivation. However, considering that spring sowings in March and April could yield different results depending on climatic conditions, they could contribute to safflower cultivation. When evaluated on a variety basis, different varieties stood out in terms of the examined parameters across the years. However, in terms of yield per decare, oil content, and protein content, the Dinçer variety showed better results compared to others. We believe that testing

newly bred varieties under conditions similar to Bingöl and promoting safflower cultivation can contribute to closing the gap in oil production.

Conflict of Interest

This study does not present any potential conflicts of interest that could arise from its findings. The research is conducted with impartiality and transparency, ensuring that the results are solely based on the objective analysis of the data and not influenced by any conflicting interests.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Adamska, I. and Biernacka, P. (2021). Bioactive substances in safflower flowers and their applicability in medicine and health-promoting foods. *International Journal of Food Science*, 4, 1-23. doi: 10.1155/2021/6657639.
- Anonim. (2011). Bingöl il çevre durum raporu, TC. Bingöl Valiliği, Çevre ve Şehircilik İl Müdürlüğü, s. 34. (Accessed date: March 12, 2023).
- Arslan, Y., Katar, D., Güneşlioğlu, H., Subaşı, İ., Şahin, B., Bülbül, A. S. (2010). Türkiye florasındaki yabancı *Carthamus L.* türleri ve aspir (*C. tinctorius L.*) ıslahında değerlendirme olanakları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2), 36-43.
- Atam Y. (2010). Farklı Ekim Zamanlarının Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) Çeşitlerinin Verim ve Verim Unsurlarına Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi-Basılmamış), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Aydın E. (2012). Bazı aspir çeşitlerinin samsun ekolojik koşullarında verim, verim unsurları ve kalite kriterlerinin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi-Basılmamış), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Babaoğlu M. (2005). Aspir Tarımı (*Carthamus tinctorius L.*), Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, S. 7, Edirne. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tta/Sayfalar/Detay.aspx?Sayfa=59> (Accessed date: September 09, 2023).
- Baseri, S. G., Honar, T., Heidari, B., Salami, M., Richards, C. M. (2022). Oil and seed yields affected by sowing dates and irrigation regimes applied in growth phenological stages of safflower. *Crop Science*, 62(5), 1967-1980.
- Baydar, H., Erbaş, S. (2007). Türkiye’de yemeklik yağ ve biyodizel üretimine uygun aspir ıslahı. I. Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu. (28-31 Mayıs) 322-330, Samsun.
- Cançelik M. (2021). A Research On Safflower (*Carthamus tinctorius L.*) The Vegetable Oil Market and The Future of Safflower in Turkey. In S. Ene (Ed.), *Current Marketing Studies and Digital Developments* (pp. 135-149). Lyon, France: Academic press.
- Coşge, B and Kaya, D. (2008). Performance of some safflower varieties sown in late-autumn and late-spring. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(1), 3-18.
- FAO. (2021). Food outlook. Biannual report on global food markets. <https://www.fao.org/3/cb7491en/cb7491en.pdf>. (Accessed date: September 10, 2023).
- Gök, N and Ekin, Z. (2019). Hakkari ekolojik koşullarında farklı ekim zamanlarının bazı aspir (*Carthamus tinctorius L.*) çeşitlerinde verim ve kalite üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(2), 88-96.
- Gomashe, S. S., Ingle, K. P., Sarap, Y. A., Chand, D., Rajkumar, S. (2021). Safflower (*Carthamus tinctorius L.*): An underutilized crop with potential medicinal values. *Annals of Phytomedicine*, 10(1), 242-248. doi: 10.21276/ap.2021.10.1.26.

- Hatipoğlu, H., Arslan, H., Karakuş, M., Köse, A. (2012). Şanlıurfa koşullarında farklı aspir çeşitlerinin (*Carthamus tinctorius* L.) uygun ekim zamanlarının belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1), 1-16.
- İnan, M. (2020). Yarı Kurak Koşullarda Ekim Zamanlarının Çörekotu (*Nigella sativa* L.) Verim ve Verim Özelliklerine Etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 32-37.
- Keleş, R and Öztürk, Ö. (2012). Farklı ekim zamanlarının bazı aspir çeşitlerinde verim ve kalite üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1), 112-117.
- Kıllı, F and Küçükler, A. H. (2005). Farklı ekim zamanı ve potasyum uygulamasının asperde (*Carthamus tinctorius* L.) tohum verimi ve bitkisel özelliklere etkisi. Paper presented at the Tarımda Potasyumun Yeri ve Önemi Çalıştayı, Eskişehir.
- Koç, H., Gümüşçü, G., Üstün, A., Ülker, R., Güneş, A., Kaya, Y., Şahin, M. (2009). Konya şartlarında aspir ekim zamanının belirlenmesi. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*, 19-22. VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, Hatay.
- Mirshakari, M., Majnounhosseini, N., Amiri, R., Moslehi, A., Zandvakili, O. R. (2013). Effects of sowing date and irrigation treatment on safflower seed quality. *Journal of Agricultural Science Technology*, 15, 505–515.
- Nikabadi, S., Soleimani, A., Dehdashti, S. M., Yazdanibakhsh, M. (2008). Effect of sowing dates on yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in İsfahan Region. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(15), 1953-1956.
- Shahrokhnia, M. H and Sepaskhah, A. R. (2017). Physiologic and agronomic traits in safflower under various irrigation strategies, plantin methods and nitrogen fertilization. *Industrial Crops and Products*, 95 126–139. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.021>
- Singh, V and Nimbkar, N. (2006). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). In R. J. Singh (Ed.), *Genetic Resource. Chromosome Engineering and Crop improvement* (pp. 167-194). New York, USA: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Tekin, F., Eryiğit, T., & Tunçtürk, M. (2021). Diyarbakır Ekolojik Koşullarında Kişniş (*Coriandrum sativum* var. microcarpum DC.) için Uygun Ekim Zamanı ve Ekim Normunun Belirlenmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7(2), 276-285.
- TUIK. (2021). Bitkisel üretim istatistikleri. Yağlı tohumlar. Tahıllar ve diğer bitkisel ürünlerin üretim miktarları. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2021-37249>. (Accessed date: September 09, 2023).
- Yeloojeh, K. A., Saeidi, G., Sabzalian, M. R. (2020). Drought stress improves the composition of secondary metabolites in safflower flower at the expense of reduction in seed yield and oil content. *Industrial Crops and Products*, 154, 112496. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112496>
- Yılmazlar B. (2008). Konya şartlarında farklı ekim zamanlarının bazı aspir çeşitlerinde önemli tarımsal karakterler üzerine ve verime etkisinin belirlenmesi. (Doktora Tezi), Accessed adress: [Birg% C3% BC1% 20YILMAZLAR% 20tez.pdf](http://www.birg.org.tr/BC1%20YILMAZLAR%20tez.pdf) (7.090Mb).

Atf İçin: Kaygısız, A. ve Türkman, O. (2024). Gaziantep İlinde Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 931-943.

To Cite: Kaygısız, A. & Türkman, O. (2024). Investigation of Animal Welfare and Herd Management Practices in Farms Reared Sheep in Gaziantep Province. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 931-943.

Gaziantep İlinde İvesi Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Bazı Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi

Ali KAYGISIZ^{1*}, Osman TÜRKMAN²

Öne Çıkanlar:

- Koyun yetiştiriciliği
- Gaziantep
- İvesi

Anahtar Kelimeler:

- Hayvan refahı
- Koyunculuk işletmeleri
- Sürü idaresi

ÖZET:

Bu çalışma Gaziantep ilinde koyun yetiştiriciliği yapılan işletmelerde sürü yönetimi ve hayvan refahına yönelik uygulamaların değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 100 adet işletmeden yüz yüze anket yoluyla elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Koyun yetiştiren işletmelerin hayvan refahına ait yeterlilikleri incelendiğinde; dinlenme alanı işletmelerin %64'ünde, aydınlatma %49'unda, havalandırma %46'sında, suluk alanı %41'inde, yemlik alanı %38'inde, sağım bölmesi %8'inde, hasta hayvan bölmesi %7'sinde ve doğum bölmesi %5'inde yeterli olduğu tespit edilmiştir. İşletmelerde yapılan uygulamalar hayvan refahı açısından değerlendirildiğinde ise; doğuma hazırlık yapılmadığı, araç banyoluk ve ayak yıkama havuzu bulunmadığı belirlenmiştir. İşletmelerde koyun banyoluğu (%3), aşılama yolu (%8) ve doğum bölmesi (%38) çok düşük oranda bulunmuştur. İşletmelerde göbek kordonu bakımı (%85), dış ve iç parazit mücadelesi (%75-97) yapıldığı tespit edilmiştir. Emiştirme döneminde yavru ölüm sebeplerinin başında ishalin (%61) geldiği, yabancı hayvan saldırısı (%76) olduğu ve işletmelerde total hayvan varlığı (%54) tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, koyun yetiştiren işletmelerde hayvan refahının tam olarak sağlanamadığı tespit edilmiştir. Bu problemi çözmek için; koyun yetiştiricileri hayvan refahı konusunda eğitim verilerek, işletme sahipleri sürü yönetimi, barınma koşulları, hastalıklarla mücadele ve doğru bakım konularında bilinçlendirilmelidir. İşletmelerde ise hayvan refahını artırmak adına altyapı iyileştirmeleri yapılmalıdır. Dinlenme alanları, aydınlatma, havalandırma, suluk ve yemlik alanları daha etkili bir şekilde düzenlenmelidir. Yetiştiricilere destek sağlamak amacıyla ziraat mühendisleri, veterinerler ve hayvan sağlığı uzmanları ile işbirliği yapılmalıdır.

Investigation of Animal Welfare and Some Herd Management Practices in Farms Reared Awassi Sheep in Gaziantep Province

Highlights:

- Sheep breeding
- Gaziantep
- Awassi

Keywords:

- Animal welfare
- Sheep Farms
- Herd management

ABSTRACT:

This study was conducted to evaluate the practices related to flock management and animal welfare on sheep farms in Gaziantep. In the study, data from 100 farms was analyzed through personal interviews. When the animal welfare competencies of sheep farms were examined, it was found sufficient that 64% had a resting area, 49% had lighting, 46% had ventilation, 41% had a watering area, 38% had a feeding area, 8% had a milking parlor, 7% had a lighting area, and 5% had a birthing area. When assessing farm practices in relation to animal welfare, there is no birth preparation, there is no vehicle bathroom or foot washing pool, there is a sheep bath (3%), there are 8% vaccination practices, 38% yes for use of the birthing chamber, 85% yes for umbilical cord care, and external and internal parasite control is 75–97% yes. The farms where there was a death during breeding were identified as 100% yes, wild animal attacks as 76% yes, and the presence of lame animals in the flock as 54%. The results of this study suggest that the welfare of animals on sheep farms is not fully guaranteed. In order to solve this problem, sheep breeders should be trained on animal welfare, and the owners should be made aware of flock management, housing conditions, disease control, and proper care. Infrastructure improvements should be made by enterprises to increase animal welfare. Resting areas, lighting, ventilation, watering, and feeding areas should be organized more effectively. Collaborate with agricultural engineers, veterinarians, and animal health experts to provide support to breeders.

^{1*}Ali KAYGISIZ ([Orcid ID: 0000-0002-5302-2735](https://orcid.org/0000-0002-5302-2735)), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

²Osman TÜRKMAN ([Orcid ID: 0009-0003-2706-0927](https://orcid.org/0009-0003-2706-0927)), Gaziantep Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği, Gaziantep, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ali KAYGISIZ, e-mail: alikaygisiz@ksu.edu.tr

Etik Kurul Onayı / Ethics Committee Approval: Bu çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Etik Kurulunun 22.01.2024 tarih ve Karar No: 2024/2 ile izin alınmıştır

GİRİŞ

Türkiye'de hayvancılık faaliyetleri içerisinde koyunculuk önemli bir rol oynamaktadır. Koyunlar yapağısı, derisi, sütü ve etinden yararlanılan çok yönlü ruminant hayvanlardır. Hemen hemen her iklim şartında yaşama kabiliyetine sahiptirler ve çayır, kök, yumru, çalı, dikenli bitkiler ve bitki hayatının ilkel formları dâhil olmak üzere farklı organik maddeleri tüketebilirler. Özellikle yerli koyun ırkları, uzun yıllardan beri yetiştirildikleri çevrenin özel şartları nedeniyle ortaya çıkmıştır. Bu ırklar, verimleri düşük olabilir ancak özgün niteliklere sahip, dayanıklı, kanaatkâr ve yetersiz çevre şartlarında yaşamlarını sürdürebilen hayvanlardır (Ertuğrul ve ark., 2000).

Türkiye'de 2023 yılı istatistiklerine göre toplam koyun sayısı 67.073.899 baş olup, bunun 8.075.534 başı (%12) İvesi'dir. Gaziantep ilinde ise koyun varlığının %46.7'si İvesi ırkıdır (Anonim, 2023). İvesi (Awassi) ırkı, Türkiye'nin yanı sıra Suriye, Filistin, Lübnan, Ürdün ve Irak'ta yetiştirilen kahverengi başlı, beyaz bacaklı, kahverengi veya siyah yüz yapısına sahip yağlı kuyruklu bir yerli koyun ırkıdır (Porter, 2020). İvesi koyunu aynı zamanda süt ve et veriminin yüksekliği ile bilinen Asaf koyun ırkının elde edilmesinde de kullanılmıştır (Kaymakçı ve Taşkın, 2008; Sönmez ve ark., 2009). Gaziantep ilindeki coğrafi şartlar küçükbaş hayvan yetiştiriciliğine uygun yapıdadır. İlde yerli koyun yetiştiriciliği ağır basmakla birlikte süt sığırı yetiştiriciliği de önemli bir potansiyele sahiptir (Anonim, 2022a). Gaziantep ili küçükbaş hayvan ihracatında Türkiye birincisi olup 2022 yılında 216.981 baş küçükbaş hayvan ihraç edilmiştir (Anonim, 2022b).

Hayvan refahı, esas olarak gıda için yetiştirilen hayvanların yaşam şartlarını ve kalitesini ifade eder (Öziş-Altınçekiç ve Koyuncu, 2012). Hayvan refahı, birçok farklı şekillerde tanımlanmakla beraber, hayvanların zihinsel ve fiziksel olarak iyi olma yani sağlıklı olma durumudur (Ünal, 2010). Hayvanlardan istenilen maksimum verimin alınabilmesi hayvan refahının sağlanmasına bağlıdır (Kaygisız ve ark., 2023). Hayvanlar için uygun olmayan çevre şartları strese ve metabolik değişimlere neden olmakla birlikte (Sucu ark., 2015), elde edilen verim miktarlarının düşmesine de sebep olmaktadır (Alkoyak ve Çetin, 2016). Hayvan refahı, aynı zamanda; hem hayvanların yaşam kalitesinin artırılması, hem de hayvanlardan elde edilen ürünlerin kalitesinin artırılması için gereklidir (Ortega ark., 2016). İnsanların hayvanlara karşı herhangi bir yükümlülüğünün bulunmadığı batı kültüründe, 18. yüzyıla kadar hayvanlar yürüyen makineler olarak kabul edilmiş ve acı çekmedikleri varsayılmıştır. Hâlbuki İslam kültüründe hayvanlara özel bir önem verilerek, insanların hayvanlara karşı tutum ve ilişkilerini belirleyen çok sayıda Kur'an ayeti ve Hz. Peygamberin hadisi bulunmaktadır (Koşum, 2018; Bor, 2020). Diğer bir anlatımla, İslam kültürü insan hayvan ilişkilerinin hak kapsamında olduğunu varsayarken, batı kültürü bu ilişkiyi refah bağlamında ele almaktadır (Akbulut, 2023).

Bu çalışmada, Gaziantep ilinde Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliğine kayıtlı İvesi koyun yetiştiriciliği yapan işletmelerde sürü yönetimi ve hayvan refahına yönelik uygulamaların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyalini Gaziantep ilinde Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliğine (DKKYB) kayıtlı İvesi koyun yetiştiriciliği yapan Şahinbey ve Şehitkamil merkez ilçelerindeki 100 işletme sahibiyle sürü yönetimi ve hayvan refahına ait soruları içeren yüz yüze yapılan anket çalışması oluşturmuştur.

Örnek Büyüklüğünün Tespiti

Araştırmanın yürütüldüğü Gaziantep ili Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliğinin 2023 yılı kayıtlarına göre en az 100 baş İvesi koyuna sahip olan 998 adet koyun işletmesi bulunmaktadır. Bu nedenle Yamane (2010) tarafından önerilen Basit Tesadüfü Örneklem Yöntemi kullanılarak (Eşitlik 1) çalışmanın örnek büyüklüğü belirlenmiştir.

$$n = \frac{N * t^2 * p * q}{(N - 1) * D^2 + t^2 * p * q} \quad (1)$$

Bu formülde yer alan terimlerden, n= Örnek büyüklüğünü, N= İşletme sayısını, D= Kabul edilen veya arzu edilen örneklem hatasını, t= Tablo değerini, p= Hesaplanması istenen oranı, q=1-p'yı ifade etmektedir.

$$n = \frac{998 * 1.96^2 * 0.5 * 0.5}{(998 - 1) * 0.1^2 + 1.96^2 * 0.5 * 0.5} = 88$$

Örneklem sayısı 88 adet tespit edilmiş olup, örneklem hatasını en aza indirmek için bu büyüklüğün %15 fazlası alınarak, çalışmada örnek büyüklüğü 100'e tamamlanmıştır.

Refah parametrelerinin değerlendirilmesinde Taşkın ve Kandemir (2019) ve Demir (2022) tarafından bildirilen kriterler esas alınmıştır.

Verilerin değerlendirilmesi

Verilerin değerlendirilmesinde Excel hesap tablosu (şekillerin oluşturulması) kullanılmıştır. Anket sayısı 100 adet olduğu için değerlendirmelerde n sayısı verilmemiş ve ifadeler % olarak yorumlanmıştır.

Bu çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Etik kurulundan (Tarih: 22.01.2024, Karar No: 2024/2) izin alınmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Demografik Özellikler

Gaziantep ilinde İvesi koyun yetiştiriciliği yapan işletme sahiplerinin demografik bilgileri ve tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 1'te verilmiştir.

Gaziantep ilinde İvesi koyun yetiştiriciliği ile geçimini sağlayan işletme sahiplerinin eğitim düzeyleri incelendiğinde büyük çoğunluğunun ilkökul seviyesinde (%51) bir eğitime sahip oldukları belirlenmiştir. Yetiştiriciler %56 oranında 41-60 yaş aralığına (ortalama 44.0±10.61 yıl) sahip olmuşlardır. Eğitim düzeyi, üreticilerin sosyo-ekonomik durumlarının ortaya konulmasında etkili olan bir faktördür (Köksal, 2009). Bu çalışmada, eğitim durumu incelendiğinde okur-yazar veya ilkökul mezunu olan işletme sahiplerinin %65 olması dikkat çekmektedir. Bu durum işletme sahiplerinin belirli bir eğitim aldıktan sonra atadan kalma bir şekilde mesleğe devam ettiklerini düşündürebilir. Nitekim, hayvancılıkla ilgili eğitime katılmış olanların %57 gibi sınırlı bir oranda kalmış olması bu düşüncüyü desteklemektedir.

İşletme sahiplerinin koyun yetiştiriciliği deneyimleri 1-10, 11-20, 21-30 ve >31 yıl ve üzeri için sırasıyla %27, %21, %21 ve %31 (ortalama 23.8±13.88 yıl) olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Yozgat ili koyunculuk işletmelerinde; yetiştiricilerin %12.7'sinin 19-30 yaş, %26.1'inin 31-40 yaş, %29.4'ünün 41-50 yaş ve %31.8'inin 51-60 yaş üstü olduğu, (Aslan, 2023) aynı ilde yapılan bir başka çalışmada ise küçükbaş hayvan yetiştiricilerinin %32.5 çoğunlukla 36-45 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir (Tüfekci, 2020). Niğde ilinde ise, koyunculuk yapan işletmelerin eğitim durumu

Gaziantep İlinde İvesi Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Bazı Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi

incelendiğinde %68.8'inin ilkökul, %14.5'inin ortaokul, %12.5'inin lise ve %4.2'sinin de okur yazar olduğu bildirilmiştir (Ceyhan ve ark., 2015). Van ilinde ise koyunculuk ile uğraşma süresi dikkate alındığında ise %90.4 oranla 15 yıldan fazla koyunculuk yapıldığı tespit edilmiştir (Barış ve Çelikyürek, 2023). Yetiştiricilik açısından eğitim düzeyinin yükselmesi ile bütün gelişmelere ve yeniliklere adaptasyon bakımından avantaj sağlanacağından işletmeler açısından mevcut tablo olumsuz olarak değerlendirilebilir.

Çizelge 1. Yetiştiricilerin Demografik Bilgileri ve Bazı Varlıklarına Tanımlayıcı İstatistikler

| Özellikler | Alt-gruplar | % | Özellikler | Alt-gruplar | % |
|----------------------------|--------------|------------|--------------------------|-------------------|------------|
| Eğitim düzeyi | Okur-Yazar | 14 | İşletmeci deneyimi (yıl) | 1-10 | 27 |
| | İlkokul | 51 | | 11-20 | 21 |
| | Ortaokul | 29 | | 21-30 | 21 |
| | Lise | 6 | | ≥ 31 | 31 |
| | | | | Ortalama | 23.8±13.88 |
| İşletmeci yaşı | 21-40 | 40 | Yetiştiricilik nedeni | Ana geçim kaynağı | 93 |
| | 41-60 | 56 | | Ek gelir kaynağı | 7 |
| | 61-74 | 4 | | | |
| | Ortalama | 44.0±10.61 | | | |
| Sosyal güvence var mı? | Evet | 51 | Hayvancılık eğitimi | Evet | 57 |
| | Hayır | 49 | | Hayır | 43 |
| Üye olunan mesleki kuruluş | DKKYB | 100 | Meslek | Çiftçi | 94 |
| | Ziraat Odası | 22 | | Serbest | 5 |
| | Kooperatif | 7 | | Emekli | 1 |

Bu çalışmada 60 yaş üzeri yetiştiricilerin oranı %4 ile sınırlı kalırken, Konya ilinde yapılan bir çalışmada ise 60 yaş ve üzeri üreticilerin oranı %8.1 (Mohamud ve Çevrimli, 2023) ve %42.1 (Aritunca ve Karabacak, 2020), Çanakkale ilinde (Gökçeada) %23.2 (Özsayın ve Everest, 2019) olarak saptanmıştır. Türkiye'deki çiftçilerin yaş ortalamasında sınırlı da olsa bir düşüş trendi yaşanmaktadır. Bu düşüşte son yıllarda uygulanan ve genç çiftçilere ayrıcalık tanıyan hibe ve kredi programlarının rol oynadığı tahmin edilmektedir. Çalışmadaki yetiştirici yaşları ile ilgili belirlenen değerler, farklı bölgeler için bildirilen ortalama yetiştirici yaşları ile benzer olmuştur (Ceyhan ve ark., 2015; Tüfekci, 2020; Aslan, 2023).

İşletme sahiplerine koyunculuk yapma nedenleri sorulduğunda ise; incelenen işletmelerin %94'ü asıl işinin koyunculuk olduğunu ifade ederken; ek gelir elde etmek amacıyla ikinci bir iş olarak yapanların oranı %6 ile sınırlı kalmıştır.

Koyunculuk yapan işletme sahiplerinin, tümünün DKKYB'ne üye olduğu, ayrıca %22'sinin Ziraat Odasına, %7'sinin kooperatiflere üye olduğu, %51'inin sosyal güvenceye sahip olduğu tespit edilmiştir.

İşletme sahiplerinin %57'si küçükbaş hayvancılık eğitimi aldığını bildirmişlerdir. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliği konusunda eğitim almış işletme sahiplerinin oranı Burdur ilinde %2.6 (Bilginturan ve Ayhan, 2009), Muş ili Korkut ilçesinde %4.9 (Kaymak ve Sarıözkan, 2016), Konya ilinde %34.62 (Şahinli, 2011), Ardahan ilinde %37.9 (Ayvazoğlu-Demir ve ark., 2015) olarak bildirilmiştir. Bu çalışma'da hayvancılık eğitimi alan çiftçilerin oranı Burdur, Muş, Konya ve Ardahan illeri için bildirilen değerlerden daha yüksektir. Bu noktada; işletme sahiplerinin yarısından fazlasının küçükbaş hayvancılık konusunda eğitim aldığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu doğrultuda yetiştiriciye konu hakkında verilecek eğitimler ve yetiştiricinin eğitimlere katılmasının teşvik edilmesi büyük önem arz

etmektedir. Böylece bir yandan işletmelerinin kârlılığını yükseltmek mümkün olabilirken diğer yandan geleneksel yetiştiricilik usulünden entansif yetiştiricilik sistemine geçiş daha kolay olabilecektir.

Hayvan refahı uygulamaları

Koyun yetiştiriciliği yapan işletmelerin hayvan refahı uygulamalarına ilişkin bazı tanımlayıcı bilgiler Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Hayvan Refahı Uygulamalarına İlişkin Bazı Tanımlayıcı İstatistikler

| Özellikler | Alt gruplar | | | Özellikler | Alt gruplar | |
|-----------------------|-------------|-------------|--------|--------------------|-------------|--------|
| | Yeterli (%) | Yetersiz(%) | Yok(%) | | Var(%) | Yok(%) |
| Dinlenme alanı | 64 | 34 | 2 | Kırkım yeri | 37 | 63 |
| Aydınlatma şartları | 49 | 51 | - | | | |
| Havalandırma şartları | 46 | 54 | - | Ayak yıkama havuzu | - | 100 |
| Yemlik durumu | 38 | 62 | - | | | |
| Suluk durumu | 41 | 59 | - | Koyun banyoluk | 3 | 97 |
| Kuzu bölmesi | 17 | 62 | 21 | | | |
| Koç bölmesi | 7 | 65 | 28 | Araç banyoluğu | - | 100 |
| Hasta hayvan bölmesi | 7 | 35 | 58 | Yükleme rampası | 17 | 83 |
| Sağım bölmesi | 8 | 34 | 58 | İdare/Bakıcı evi | 25 | 75 |
| Doğum bölmesi | 5 | 35 | 60 | Aşılama yolu | 8 | 92 |

Küçükbaş hayvan barınaklarında sağlıklı hayvan üretmek ve daha fazla verim almak için havalandırma ve aydınlatmanın yeterli olması gerekir. Hâlbuki, çalışmanın yapıldığı işletmelerin büyük çoğunluğunun hayvan refahı konusunda yeterli olmadığı gözlenmiştir. İşletmelerde yılda bir veya birkaç kez lazım olan ayak yıkama havuzu hiç bulunmazken, koyun banyoluğu %3, aşılama yolu %8, yükleme rampası %17, kırkım yeri ise %37 oranında bulunmaktadır. İşletmelerde koyun dinlenme alanı %98 oranında mevcut olup %64 oranında yeterli bulunmuştur. Ancak barınakların çoğunun eski tip olması, baca ve pencerelerin yetersiz olması sebebiyle işletmelerin yarısında aydınlatma yetersiz, pencereler konumlanırken hâkim rüzgar durumuna dikkat edilmemesi sebebiyle de havalandırma şartları yetersiz konumdadır. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde yerleşim sıklığının daha fazla olması nedeniyle havalandırma çok önemlidir. Barınak içindeki yetersiz havalandırma ciddi sorunlara yol açabilir. Zamanla, havanın durgunluğu nedeniyle ortam daha sıcak ve nemli bir hale gelir; bu da hastalık yapan mikroorganizmaların, tozların ve özellikle amonyak gibi zararlı gazların konsantrasyonunu artırır. Bu koşullar altında hayvanlar daha kolay solunum yolu hastalıklarına yakalanabilir ve üretim düzeyleri düşer (Sainsbury ve Sainbury, 1989). Konuyla ilgili Ünal ve ark., (2017), hayvan refahı ve sağlığı için yeterli doğal havalandırma ve aydınlanmanın sağlanması ve pencere/tabana oranının \geq %10 olması gerektiğini bildirmişlerdir.

Doğum ve yavru büyütme uygulamaları

Doğum ve yavru büyütme uygulamalarına ilişkin tanımlayıcı değerler Çizelge 3’de verilmiştir. İşletmelerin %38’inde ise doğum bölmesi bulunmakla ancak hiçbirinde doğuma hazırlık yapılmamaktadır. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliği yapan işletmelerde doğum bölmesi bulunanların oranları; Van ili merkez ilçesinde %48.2 (Yıldız ve Aygün, 2021), Hakkari ilinde %55.2 olup, işletmelerin yalnızca %22.9’unda özel doğum bölmesi bulunmaktadır (Demir ve Tuncer, 2022).

Yine bu çalışmada doğum sonrasında işletmelerin %85’inde göbek kordonu bakımı yapıldığı ve işletmelerin %95’inde yavrulara ağız sütü verildiği belirlenmiştir (Çizelge 3). Soydiç (2020) koyunculuk işletmelerinin %73.68’inde göbek kordonu bakımı yapıldığını ve %98.95’inde ise ağız sütü içirildiğini bildirmiştir. Göbek kordonu bakımının ihmal edilmesi durumunda, apse, peritonit,

Gaziantep İlinde İvesi Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Bazı Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi

septisemi ve poliartirit gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Bu nedenle, eğer doğum sonrasında göbek kordonu hala bağlıysa, kordon vücutta 3-5 cm uzunluğunda bırakılmalı ve en geç 15 dakika içinde %2-7'lik iyot solüsyonu ile temizlenmelidir (İder ve Ertürk, 2023).

Çizelge 3. İşletmede İdari İşlere Ait Tanımlayıcı İstatistikler

| Özellikler | Alt gruplar (%) | | Özellikler | Alt gruplar (%) | |
|------------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------------------|------------------|-------|
| | Yapılıyor/Var | Yapılmıyor/Yok | | Evet | Hayır |
| Doğuma hazırlık | - | 100 | Yavruları ağız sütü ile besleme | 95 | 5 |
| Göbek kordonu dezenfeksiyonu | 85 | 15 | Yabani hayvan saldırısı | 76 | 24 |
| Doğum bölmesi kullanımı | 38 | 62 | Emiştirme döneminde yavru ölüm sebebi | İshal | 61 |
| Anasız yavru besleme yöntemi | Başka ana ile besleme | Biberon ile besleme | | Soğuk/Sıcak şoku | 16 |
| | 45 | 55 | Açlık | 9 | |
| Yavru zarlarını yok etme | Köpeğe verme | 52 | Anayı bulamama | 5 | |
| | Çöpe Atma | 39 | Diğer | 9 | |
| | Gömme | 9 | | | |

Doğum sonrası yavru zarlarının imhası ile ilgili olarak köpeğe veren, çöpe atan ve toprağa gömen işletmelerin oranları sırasıyla, %52, %39 ve %9 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Antalya ilinde yapılan çalışmada aynı sırayla yavru zarlarının imhası %45.26, %37.90 ve %16.84 olarak bildirilmiştir (Soydınç, 2020).

Bununla birlikte yetiştiricilerin anasız yavruları besleme yöntemi; başka ana ile besleme (yakma) ve biberon ile besleme sırasıyla %45 ve % 55 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3). Kaygısız ve ark., (2024) Mersin ili keçicilik işletmelerinde anası ölen yavruları besleme yöntemini; biberonla besleme, yakma ve biberon + yakma oranlarını sırasıyla %40.0 (n=48), %39.2 (n=47) ve %20.8 (n=25) olarak tespit etmişlerdir. Taşkın ve ark., (2017) anası ölen oğlakların %91.3'ünün başka bir ana ile (yakma) beslendiğini bildirmişlerdir.

Kuzu ölümleri, küçükbaş hayvan çiftliklerinde önemli bir sorundur. Bu sorunun üstesinden gelmek için, hayvan ölümlerine katkıda bulunan faktörlerin belirlenmesi gerekmektedir (Keçeci ve ark., 2023). Ayrıca, etkili bakım, beslenme, hijyen, aşılama ve hastalık önleme tedbirlerinin uygulanması zorunlu olup (Anonim, 2011; Anonim, 2012), bu adımların hayata geçirilmesi önemlidir. İshal ve pnömoni gibi bulaşıcı hastalıkların, kuzu-oğlak ölümlerinin önde gelen sebepleri arasında bulunduğu bildirilmiştir (Fesseha ve ark., 2023). Nitekim bu çalışmada da emiştirme döneminde en büyük ölüm sebebi % 61 ile ishal vakaları olmuştur (Çizelge 3). Küçük Menderes Havzasında koyunculuk işletmelerinde kuzu ölüm nedenleri soğuk (%59.09) ve ishal (% 31.82) olarak bildirilmiştir (Aydiner, 2018). İzmir yöresi küçükbaş hayvancılık işletmelerinin %80,1 büyütme döneminde ölümlerin olduğu, ölüm nedenleri arasında ilk sırada soğuk şoku (%44.8) yer almış bunu açlık, ishal ve ana bulamama gibi etmenlerin izlediği bildirilmiştir (Kandemir ark., 2015)

Yetiştiricilerin %76'sı hayvanlarının yabani hayvan saldırısına maruz kaldığını ifade etmişlerdir (Çizelge 3). Daha öne yapılmış olan çalışmalarda yabani hayvan saldırısı oranları, Çanakkale ili Sakız ve Tahirova işletmelerinde, %13 (Bosdan ve ark., 2023), ABD'de ise (%32.49) olarak bildirilmiştir (NASS, 2010). ABD'de yapılan bir başka çalışmada, çiftlik hayvanları ölüm nedenleri içinde yabani hayvanlardan kaynaklanan ölüm oranı %34'dür. Yüzde 34'ün içinde de ilk sırayı çakallar alırken bunu sırasıyla; yaban köpekleri, vaşak ve diğerleri izlemiştir (Browns ve ark., 1997; McNeal, 2001).

Gaziantep İlinde İvesi Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Bazı Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi

İşletmelerde gübre toplama ve değerlendirme şekline ait tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4'te verilmiştir. İşletmelerin %99'unda gübreler kürek ve/veya el arabası ile %1'inde ise traktör sıyrıcılar ile toplanmaktadır. Gübreler işletmelerin %45'inde işletme içinde depolanmakta, işletmelerin %69'unda gübreler işletme içinde kullanılmaktadır. Günlük, haftalık ve aylık gübre toplama sıklığı ise sırasıyla %25, %54 ve %21 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4. İşletmelerde Gübre Toplama ve Değerlendirme Şekline Ait Tanımlayıcı İstatistikler

| Özellikler | Alt-gruplar | % | Özellikler | Alt-gruplar | % |
|---------------------------|--------------------|----|-------------------------|-----------------------|----|
| Gübre toplama yöntemi | Kürek/El arabası | 99 | Gübre depolama yöntemi | İşletme içi depolama | 45 |
| | Traktör sıyrıcı | 1 | | İşletme dışı depolama | 40 |
| Gübre değerlendirme şekli | İşletmede kullanma | 69 | Gübre temizleme sıklığı | Gübre deposu | 15 |
| | | | | Haftalık | 54 |
| | Pazarlama | 31 | | Günlük | 25 |
| | | | | Aylık | 21 |

Konu ile ilgili, Mersin ili keçicilik işletmelerinde günlük, haftalık ve aylık gübre toplama sıklığının %11.7, %82.5 ve %5.8 olduğu, işletmelerin %85.8'inde toplanan gübrelerin dışarıya pazarlandığı, tüm işletmelerde gübrelerin kürek veya el arabası ile toplandığı ve işletmelerin %75.8'inde gübrelerin dışarıda depolandığı bildirilmiştir (Kaygısız ve ark., 2024). Sinop ili keçicilik işletmelerinde ise yetiştiricilerin işletmelerinde elde ettikleri hayvan gübrelerini toplama şekli kürek/el arabası ve traktörün sıyrıcısı kullananların oranı sırasıyla %99 ve %1 olarak; gübre temizlik sıklığı günlük, aylık ve yıllık oranlarının ise sırasıyla %40, %52 ve %8 olduğu tespit edilmiştir (Kaygısız ve ark. 2023). Gübre değerlendirmeyi dışarı atma, dışarı atma+arazi için kullanma ve işletme arazilerinde kullanma oranları ise sırasıyla %17, %8 ve %75 olarak bildirilmiştir. Sinop ilinde, yetiştiricilerin gübreleri işletmelerin %96'sında barınak dışında ve %4'ünde de barınak içerisinde biriktirme şeklinde uygulandığı belirtilmiştir (Kaygısız ve ark., 2023). Yetiştiriciler gübre temizleme sıklığını haftalık (%74.74), günlük ve aylık (%12.63 eşit olarak) olarak yaptığını bildirmişlerdir.

Otlatılan hayvanların, refahları konusunda karşı karşıya kaldıkları önemli problemlerden birisi de topallık olup, topallığı önlemek için hayvanlara temiz ve yumuşak barınak zemini sağlanması yanında, yeterli hareket imkânı ve düzenli ayak bakımı yapılmalıdır (Işık ve Erzurum, 2021). Bu çalışmada koyun sürülerinin %54'ünde topallık problemi yaşandığı belirlenmiştir (Çizelge 5). Alkan ve Türkmen (2021) Ordu ili koyunculuk işletmelerinde bulunan hayvanların %19.77'sinde topallık görüldüğünü, Kaygısız ve ark., (2023) tarafından ise Sinop ili keçi işletmelerinin %23'ünde total hayvan varlığı bildirilmiştir.

Çalışma yapılan koyunculuk işletmelerinde “meme anormalliği var” diyen yetiştiricilerin oranı %59 olarak belirlenmiştir. Yine sürülerde meme anormallikleri incelendiğinde, asimetric meme olarak niteleyen işletmelerin sayısı 7 (%11.9), kör-sarkık meme olarak niteleyen işletmelerin sayısı 46 (%77.97), anormalliğin fazla meme başından kaynaklandığını ifade eden yetiştiricilerin sayısı ise 6 (%10.17) olarak belirlenmiştir. Sinop ili keçi sürülerinde meme anormalliğinin kaynağının %58'inin kör ve sarkık meme, %30'unun asimetric meme ve %12'sinin ise fazla meme başından kaynaklandığı belirtilmiştir (Kaygısız ve ark., (2023).

Çalışmada elde edilen sonuçlardan hareketle meme ile ilgili sorunların daha çok memenin tip özelliklerinden kaynaklandığı, bu yüzden koyun sürülerinde meme tip özelliklerine göre seleksiyon çalışmasının yürütülmesine ve meme hastalıkları ve korunma yöntemleri konularında yetiştiricilerin ve bakıcıların bilinçlendirilmesine ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır.

Gaziantep İlinde İvesi Koyun Yetiştiren İşletmelerde Hayvan Refahı ve Bazı Sürü Yönetimi Uygulamalarının İncelenmesi

İşletmelerde parazit mücadelesi yapılma uygulamalarına ait yetiştiricilerin verdikleri bilgiler değerlendirildiğinde ise; işletmelerin 97'sinde iç parazit ve tamamında ise dış parazit mücadelesi yapıldığı belirlenmiştir (Çizelge 5). Benzer olarak, Özyürek ve ark. (2018), Erzincan ilinde koyun yetiştiricilerinin %93'ünün iç-dış parazit mücadelesi yaptığını, Gül ve ark., (2021) ise Aksaray ilindeki koyun yetiştiricilerinin %43.22'sinin iç-dış parazit mücadelesi uyguladığını belirtmiştir. Kenya'da yapılan bir çalışmada küçükbaş otlatma sistemlerinde en yaygın hastalıkların kene kaynaklı olduğu ve parazit mücadelesinin sıklıkla yapıldığı bildirilmiştir (Kosgey ve ark., 2006). Bu çalışma sonuçları ve verilen diğer çalışmaların sonuçları incelendiğinde genel olarak küçükbaş hayvanlarda parazit mücadelesi konusunda bir farkındalıklarının olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 5. İşletmelerde Hayvan Sağlık Uygulamalarına Ait Tanımlayıcı İstatistikler

| Özellikler | Alt gruplar | | |
|---|--------------------|----------------------|-------|
| | Var (%) | Yok (%) | |
| Topal hayvan | 54 | 46 | |
| Meme anormalliği | 59 | 41 | |
| Fazla meme | 6 | | |
| Asimetri | 7 | | |
| Kör/sarkık meme | 46 | | |
| | Yapılıyor/Evet (%) | Yapılmıyor/Hayır (%) | |
| İç parazit mücadelesi | 97 | 3 | |
| Düzenli tırnak bakımı | 13 | 87 | |
| | Hap | Enjeksiyon | Diğer |
| Dış parazit mücadelesi | 75 | 40 | 1 |
| | Evet (%) | Hayır (%) | |
| Dışarıdan alınan hayvanlara karantina uygulanıyor mu? | 44 | 56 | |
| Gebelik dönemi özel besleme uygulaması var mı ? | 51 | 49 | |
| | Düzenli (%) | Düzensiz (%) | |
| Resmi aşılama | 62 | 38 | |
| Özel aşılama | 34 | 66 | |

Yetiştiricilere koyunlara düzenli olarak tırnak bakımı yapıp yapmadıkları sorulmuş ve elde edilen cevaplara göre işletmecilerin %13'ünün düzenli tırnak bakımı yaptıklarını ifade etmişlerdir. Oysa, Gül ve ark., (2021) ise Aksaray ilindeki koyun yetiştiricilerinin %71.6'sının koyunlarda tırnak bakımını yaptıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada tırnak bakımını yapan işletme oranının çok düşük olduğu belirlenmiştir. Bu oranın artırılmasının hayvan refahına, sağlığına ve verimine katkı sağlayacağı beklenen bir sonuçtur. Bu konu ile ilgili olarak yetiştiricilerin ve çobanların bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada işletme sahiplerinden hayvanlara resmi olarak zorunlu aşuların düzenli olarak uygulandığını ifade edenlerin oranı %62 olarak belirlenmiştir. Yetiştiriciler özel yapılması gereken aşuları %34 oranında düzenli, %66 oranında ise rasgele yaptıklarını bildirmişlerdir. Erzincan ilindeki koyun yetiştiricilerinin %93'ü (Özyürek ve ark., 2018) ve %97'si (Kul ve ark., 2022) hayvanlarına düzenli olarak aşı yaptırdıkları, Malatya ilindeki koyun yetiştiricilerinin ise %97.7'sinin zorunlu aşuları yaptırdıkları (Kösemey ve ark., 2022) bildirilmiştir. Bursa ilindeki koyun yetiştiricilerinin tamamı ise hayvanlarına çok yüksek oranda programa uygun şekilde aşı yaptırdıkları belirtilmiştir (Altınçekiç, 2014). Diğer yandan, Niğde ilinde koyun yetiştiriciliği yapılan işletmelerde ise düzenli bir aşılama programının olmadığı tespit edilmiştir (Çınar ve Ceyhan, 2021).

SONUÇ

Gaziantep bölgesinde küçükbaş hayvancılık işletmelerindeki anaç hayvan sayısı ortalama 90–110 baştır. Halbuki, özellikle küçükbaş hayvancılık işletmelerinde karlılığı etkileyen en önemli faktör sürü genişliğidir (Papanagiotou, 1991). Nitekim, daha önce bazı çalışmalarda yapılan ekonomik analizler sonucunda büyük işletmelerin küçük işletmelere oranla daha başarılı olduğu belirlenmiştir (Paksoy, 2009). Tarımsal işletmelerde işletmenin ölçek büyüklüğü ile birim maliyeti arasında ters yönlü ilişki bulunmaktadır. Yani işletme ölçeği büyüdükçe birim maliyet düşmekte ve kârlılık artmaktadır (Keskinkılıç, 2019). Sürü büyüklüğünün sınırlı olması işletmelerin gelişmesinin ve sorunların çözümünün önündeki en büyük problemlerden birisidir. Bu işletmelerin çok büyük kısmı köy yerinde işletme sahibinin evinin altında, yanında, briketlerden yapılma, sıvasız, ışıklandırması, havalandırması yetersiz olan ve hayvanların bakım-besleme şartlarına uymayan barınaklardan oluşmaktadır. Hatta bir kısmı işletme evlerin yanındaki çadır brandalardan oluşmaktadır.

Gaziantep bölgesindeki koyunculuk işletmeleri incelendiğinde hayvan refahı açısından birçok eksiklik görülmekte ve yapılan ankette bunu teyit etmektedir. Bu tip çalışmalarda; hayvan refahını konuşurken hayvan sahibinin/insanın refah görmezden gelinirse hayvan refahı problemi çözülemez. Üreticinin refahının çözülmesinin birinci kuralı ise gelirin arttırılmasıdır. Gelirin artması için de büyük zahmetlerle üretilmiş olan ürününün değerinden satılması sağlanmalıdır. Emeginin karşılığını alan, para kazanan üretici kendi yaşam şartlarını, refah düzeyini iyileştirdikten sonra ekmek kapısı olan hayvanlarının refah ve yaşam şartlarını da iyileştirme yoluna gidecektir.

Türkiye’de başta Tarım ve Orman Bakanlığı olmak üzere farklı kurumlar dönemsel olarak mevcut hayvan işletmelerinin modernizasyonu ve yeni yapılacak işletmelere büyük oranlarda destek ve hibe vermektedirler. Ancak söz konusu desteklerden faydalanabilmek için mevcut işletmenin veya yeni yapılacak işletmenin ruhsatlı ve projeli olması gerekiyor. Bölgedeki küçükbaş hayvancılık işletmelerinin %95’inden fazlası bu şartları taşımamaktadır. Mevcut işletme sahiplerinin ahırlarının modernizasyonu için bu şartları yerine getirmeleri neredeyse imkânsızdır. Hibe ve desteklerin mevcut ağıl yapısına, küçük işletmelerin basit bir şekilde bu hibelerden faydalanacak bir yapıya dönüştürülmesi gerekmektedir.

Üniversitelerde hayvan refahı, ahır, ağıl ve hayvan barınakları ile ilgili bilgiler verilirken modern işletmeler örnek gösterilerek ve modern işletmelerin nasıl yapılacağına dair bilgileri verilmektedir. Oysa mevcut ülke şartlarında hayvancılık yapılan işletmeler göz önüne alınarak bunlara göre çözüm oluşturulmalı, bu işletmelerdeki hayvan bakım, beslenme şartlarına göre bilgi ve eğitimler verilmelidir.

Bu araştırma verilerine dayalı olarak çeşitli sorunların çözümüne ilişkin öneriler ise aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- **Eğitim Programları ve Bilinçlendirme:** İşletme sahiplerine ve çalışanlara, koyun yetiştiriciliği konusunda eğitim programları düzenlenmelidir. Özellikle hayvan refahı, hastalıkların önlenmesi, doğum öncesi ve sonrası bakım gibi konularda bilinçlendirme artırılmalıdır.
- **Barınak İyileştirmeleri:** İşletmelerde hayvan refahını artırmak adına barınaklarda iyileştirmeler yapılmalıdır. Aydınlatma, havalandırma, doğum bölmesi gibi unsurlar, modern standartlara uygun olarak düzenlenmelidir.
- **Doğum Hazırlığı ve Bakım:** İşletme sahipleri doğuma hazırlık konusunda eğitilmelidir. Doğum bölmesi kullanımı teşvik edilmeli ve doğum sonrası bakım uygulamaları düzenli olarak yapılmalıdır.
- **Parazit Kontrolü ve Aşılama:** Parazit mücadelesi ve aşılama uygulamalarına daha fazla önem verilmelidir. Bu, hayvan sağlığını korumak ve hastalıkları önlemek adına kritik bir faktördür. Aşılama

uygulamalarında ise resmi ve özel aşların düzenli ve planlı bir şekilde yapılması teşvik edilmelidir.

- **Gübre Yönetimi:** Gübre yönetimi konusunda işletmelerin daha etkili stratejiler benimsemesi önemlidir. Gübre depolama ve kullanma konusunda hijyen standartlarına uygun uygulamalar geliştirilmelidir.
- **Topallık ve Meme Sağlığı:** Topallık sorunlarına karşı daha etkili önlemler alınmalı, barınak zeminleri düzenlenmeli ve ayak bakımı düzenli olarak yapılmalıdır. Meme anormallikleri konusunda seleksiyon çalışmaları ve eğitim programlarıyla çözüm odaklı yaklaşımlar benimsenmelidir.
- **Tırnak Bakımı:** Tırnak bakımı konusunda yetiştiriciler ve çobanlar bilinçlendirilmeli, düzenli tırnak bakımı için programlar oluşturulmalıdır.
- **Sosyal Güvence:** İşletme sahiplerinin sosyal güvenceye sahip olmaları teşvik edilmelidir. Bu, hem işletme sahiplerinin güvence altına alınmasını sağlar hem de sektördeki profesyonelleşmeye katkıda bulunabilir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkıları

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akbulut, Ö. (2023). Çiftlik Hayvanları Yetiştiriciliğinde Kastrasyon ve Suni Tohumlama Teknikleri ve Hayvan Hakları Hayvan Refahı. *Helal ve Etik Araştırmalar Dergisi*, 5(2), 24-31. <https://doi.org/10.51973/head.1282593>
- Alkan, S., & Türkmen, Z. (2021). Ordu ili koyunculuk işletmelerinde görülen önemli hastalıkların ve sorunların belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 10(2), 427-432. <https://doi.org/10.29278/azd.907047>
- Alkoyak, K. & Çetin, O. (2016). Süt Sığırlarında Sıcaklık Stresi ve Korunma Yolları. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 5(1), 40-55. <https://dergipark.org.tr/en/pub/bdhad/issue/35006/388376>
- Altınçekiç ŞÖ. Bursa ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve refah ölçütleri açısından değerlendirilmesi. [Doktora Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Anonim, 2012. Küçükbaş Hayvancılık Çalıştay Raporu (2012). Doğu Anadolu Kalkınma Ajansı. T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı. (Erişim: 26.04.2023) <https://www.daka.org.tr/panel/files/files/yayinlar/Kucukbas%20Hayvancilik%20Raporu.pdf>.
- Anonim, (2022a). Gaziantep Kalkınma Stratejisi Raporu. <https://www.ika.org.tr/assets/upload/dosyalar/gaziantep-kalkinma-stratejisi.pdf>.
- Anonim, (2022b). Gaziantep ili Tarım Orman İl Müdürlüğü 2022 Yılı Brifing Çalışması. https://gaziantep.tarimorman.gov.tr/Belgeler/2023/Koordinasyon/Brifing_2022%20y%C4%B1l.
- Anonim, (2023). Hayvancılık istatistikleri. Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü.
- Anonim, 2011. Üretici Rehberi (Küçükbaş Hayvancılık), T.C. Kalkınma Bakanlığı arşivi. <http://www.kop.gov.tr/upload/dokumanlar/227.pdf>. (Erişim: 26.04.2023)
- Arıtunca, D. & Karabacak, A. (2020). Konya Merkez İlçelerinde Koyunculuk İşletmelerinin Durumu. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1), 13-24.

- Aslan, A. (2023). *Yozgat İli Koyunculuk İşletmelerinin Biyogüvenlik ve Hayvan Refahı Açısından Değerlendirilmesi*. [Yüksek Lisans Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Aydiner, R. (2018). *Küçük Menderes Havzası Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri* [Yüksek Lisans Tezi] Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Ayvazoğlu Demir, P., Adıgüzel Işık, A., Aydın, E., Yazıcı, K., & Ayvazoğlu, C. (2015). Ardahan ilinde Koyun Yetiştiriciliğinin Sosyo-Ekonomik Önemi. *Van Veterinary Journal*, 26(3), 141-146.
- Barığ, M., & Çelikyürek, H. (2023). Van İli Koyunculuk İşletmelerinde Kullanılan Teknolojilerin Tespiti. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 8(4), 576-589. <https://doi.org/10.35229/jaes.1321094>.
- Bilginturan, S. (2009). Burdur İli Damızlık Koyun ve Keçi Yetiştiriciler Birliği Üyesi Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Sorunları Üzerine Bir Araştırma. *Hayvansal Üretim*, 50(1), 1-8.
- Bor, A. (2020). İslam'da Hayvan Hakları. Türkiye Diyanet Vakfı Yayınları No: 806 ss:149.
- Bosdan, K., Tölu, C., & Savaş, T., (2023). Productive Life, Culling Rate and Culling Reasons in Sakız and Tahirova Sheep Farms of Çanakkale. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26(3), 680-691. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1106752>.
- Browns, J. E. & Wade, D.A. (1997). Procedures for Evaluating Predation on Livestock and Wildlife Texas A&M University.
- Ceyhan, A., Şekeroğlu, A., Ünal, A., Çınar, M., Serbester, U., Akyol, E. & Yılmaz, E. (2015). Niğde İli Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Sorunları Üzerine Bir Araştırma. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 18(2), 60-68.
- Demir, Y (2022) . Hayvan Barınaklarında Planlama İlkeleri Ders Notları. Antalya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Koordinasyon ve Tarımsal Veriler Şube Müdürlüğü Yayınları. <https://antalya.tarimorman.gov.tr/Belgeler/Hayvan%20Bar%C4%B1naklar%C4%B1nda%20Planlama%20C4%B0lkeleri%20Ders%20Notlar%C4%B1.pdf>
- Demir, Y., & Tuncer, SS (2022). Current Situation and General Problems of Small Ruminant Enterprises in Hakkâri Province. *Van Veterinary Journal*, 33 (3), 97-105. DOI: <https://doi.org/10.36483/vanvetj.1164939>.
- Ertuğrul, M., Akman, N., Dellal, G. & Goncagül, T. (2000). Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. 17-21 Ocak 2000 Ankara. S: 285-300.
- Fesseha, H., Gebremichael, G., Asefa, I., & Edaso, T. (2023). Study on incidence of lamb morbidity and mortality and associated risk factors in the mixed crop-livestock production system of Gewata District, Kaffa zone, southwestern Ethiopia. *Animal Diseases*, 3(1), 3-13.
- Gül, S., Oflaz, N Z., Keskin, M., & Behrem, S. (2022). Aksaray İlinde Koyun Yetiştiriciliğinin Yapısal Özellikleri. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi* 5(2), 1-11
- Işık, M.K. & Erzurum, O. (2021). Kuzu ve Oğlak Yetiştiriciliğinde Refah Uygulamaları. https://scholar.google.com/citations?view_op=list_works&hl=tr&hl=tr&user=7etzge0AAAAJ
- İder, M., & Ertürk, A. (2023). Koyun ve keçilerde neonatal kayıpların önlenmesi. (Editör: Alkan F). *Sağlıklı ve Sürdürülebilir Koyun ve Keçi Yetiştiriciliği*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; p.28-35.
- Kandemir, Ç., Alkan, İ., Yılmaz, H.İ., Ünal, H.B., Taşkın, T., Koşum N. & Alçiçek A. (2015). İzmir Yöresinde Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinin Coğrafik Konumlarına Göre Genel Durumu ve Geliştirilme Olanakları. *Hayvansal Üretim*, 56(1), 1-17.

- Kaygısız, A., Yılmaz, İ. & Ceylan, S. (2024) Mersin ilindeki keçi işletmelerinin hayvan refahı bakımından değerlendirilmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (1), (Basımda). <https://doi.org/10.37908/mkutbd.1296386>
- Kaygısız, A., Yılmaz, İ. & Taşan, K. E. (2023). Sinop İlinde Keçi İşletmelerinin Sürü Yönetimi ve Hayvan Refahına Uygunluğunun İncelenmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 9(3), 477-489. <https://doi.org/10.24180/ijaws.1303590>.
- Kaymak, K., & Sarıözkan, S. (2016): Muş ili Korkut İlçesinde koyunculuk İşletmelerinin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Üretim Maliyetleri. *Van Veterinary Journal* 27(3), 141-146.
- Kaymakçı, M., & Taşkın, T. (2008). Türkiye koyunculugunda melezleme çalışmaları. *Hayvansal Üretim*, 49(2) 43-51. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/85069>
- Keçeci, H., Gazioğlu, A., İlgin, M., & Fırat, R. (2023). Determination and Prevalence of Some Important Pathogens in Newborn Calf Diarrhea in Bingöl and its Surroundings. *MAS Journal of Applied Sciences*: 8(4), 744-764. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8398131>.
- Keskinkılıç, K. (2019). *Koyunculuk faaliyetinin sürdürülebilirliği; İzmir ili örneği*. [Doktora Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Kosgey, I. S., Baker, R.L., Udo, H. M. J. & Van Arendonk, J. A. M. (2006). Successes and failures of small ruminant breeding programmes in the tropics: a review. *Small Ruminant Research* 61 (1), 13–28. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.01.003>
- Koşum, A. (2018). İslam Hukukunda Hayvan Hakları, DİB Yayınları, Sertifika No: 12930, ISBN: 978-605-7519-04-7.
- Köksal, Ö. (2009). *Organik Zeytin Yetiştiriciliğine Karar Verme Davranışı Üzerinde Etkili Olan Faktörlerin Analizi*. [Doktora Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>.
- Köseman, A., Kul, S., & Şeker, İ. (2022). Malatya İlindeki Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Yetiştiricilerin Sosyo-Ekonomik Durumu. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 36(1), 1-9.
- Kul, S., Şeker, İ., & Köseman, A. (2022). Elazığ ilindeki koyun yetiştiricilerinin sosyodemografik durumu ve işletmelerdeki hayvan sağlığı faaliyetleri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 19(3), 195-202.
- McNeal, L.G. (2001). Sheep Husbandry Methods Can Effect Predation. Navajo Sheep Project. Serving People, Preserving Cultures, Inc, Utah-USA.
- Mohamad, A. H. & Çevrimli, M. B. (2023). Konya İli Selçuklu İlçesi Koyunculuk İşletmelerinin Teknik ve Ekonomik Analiz. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 16(3), 342-356.
- NASS, (2010). Sheep and Goats Death Loss. the National Agricultural Statistics Service (NASS), Agricultural Statistics Board, U.S. Department of Agriculture. For information on Sheep and Goats Death Los. <https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/hh63sv88v/mc87pt05z/jw827f62b/sgdl-05-27-2010.pdf>
- Ortega, D. L., Hong, S. J., Wang, H. H. & Wu, L. (2016). Emerging markets for imported beef in China: Results from a consumer choice experiment in Beijing. *Meat Science*, 121, 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.032>
- Öziş-Altınçekiç, Ş. & Koyuncu, M. (2012). Çiftlik Hayvanlarında Refahın İyileştirilmesinde Yetiştiricinin Rolü. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1), 131-142.
- Özsayın, D. & Everest, B. (2019). Koyun Yetiştiriciliği Yapan Üreticilerin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Koyunculuk Faaliyetiyle İlgili Uygulamaları. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(Ek Sayı 2), 440-448.

- Özyürek, S., Türkyılmaz, D., Dağdelen, Ü., Esenbuğa, N., & Yaprak, M. (2018). Erzincan ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunlarının işletme büyüklüğüne göre incelenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi* 7 (2), 219-226
- Paksoy, M (2009). *Kahramanmaraş İlinde Süt Üretimine Yönelik Keçi Yetiştiriciliğine Yer Veren Tarım İşletmelerinin Ekonomik Analizi*. [Doktora Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Papanagiotou, E. (1991). Some factors of goat farming profitability in Greece. *Agricoltura Mediterranea*, 121 (4), 305-311
- Porter, V. (2020). *Mason's world dictionary of livestock breeds, types and varieties*. CABI.Nosworthy Way Wallingford Oxfordshire OX 10 8DE UK.
- Sainsbury, D., Sainsbury, P., 1989. *Livestock Health and Housing. The Housing of Sheep*. Third Edition English Language Book Society/ Bailliere Tindall. ELBS. 13-297 PP.
- Soydınç, E. (2020). *Antalya İli Keçi İşletmelerinin Barındırma Olanaklarının Belirlenmesi ve Hayvan Refahı Açısından Değerlendirilmesi* [Yüksek Lisans Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Sönmez, R., Kaymakçı, M., Eliçin, A., Tuncel, E., Wassmuth, R., & Taşkın, T. (2009). Türkiye Koyun Islahı Çalışmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2), 43-65. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/154095>
- Sucu, E., Akbay, K. C. & Filya, İ. (2015). Ruminantlarda Sıcaklık Stresinin Metabolizma Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2), 130-138. <https://doi.org/10.17094/avbd.38896>
- Şahinli, M. A. (2011). *Konya İlinde Koyunculuk Faaliyetine Yer Veren Tarım İşletmelerinin Ekonomik Analizi ve Koyunculuk Faaliyetinde Etkili Olan Unsurların Saptanması*. [Doktora Tezi]. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>.
- Taşkın, T. & Kandemir, Ç (2019). Koyunlarda Refah Ölçütleri ve Değerlendirilmesi. *Akademisyen Kitabevi*.<https://books.akademisyen.net/index.php/akya/catalog/download/1587/1780/39548?inline=1>
- Taşkın, T., Koşum, N. , Engindeniz, S., Savran, A., Aktürk, D., Kesenkaş, H., Uzmay, A. & Gökmen, M. (2017). İzmir, Çanakkale ve Balıkesir İlleri Keçi İşletmelerinde Sürü Yönetim Uygulamaları Üzerine Bir Araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(3), 341-349. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.388089>
- Tüfekçi, H. (2020). Yozgat İli Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliğinin Yapısal Durumu ve Geliştirme Olanaklarının Belirlenmesi. *Hayvansal Üretim*, 61 (1), 91-100, <https://doi.org/10.29185/hayuretim.663273>
- Ünal N. 2010. Yetiştiricilikte Hayvan Refahının Ölçülmesi. III. Ulusal Veteriner Zootekni Kongresi, Afyon, s. 100.
- Ünal, H.B., Taşkın, T., Alkan, İ., Yılmaz, H.İ. & Kandemir, Ç. (2017). Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinde Performansın Belirlenmesine İlişkin Bir Uygulama: İzmir İli Örneği. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 14 (03), 9-18.
- Yamane, T. (2010). *Temel Örneklem Yöntemleri*. Literatür Yayıncılık, İstanbul
- Yıldız, A., & Aygün, T. (2021). Van İli Merkez İlçede Küçükbaş Hayvancılık Faaliyetleri ve Genel Sorunlar: I. İşletmelerin Yapısal Özellikleri. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*, 4(1), 23-36.