

ISUBU

Journal of Agriculture Faculty

Ziraat Fakültesi Dergisi

ISSN 1304-9984 e-ISSN 2687-3419



Volume 19

Issue 2

Year 2024

ISUBU

*J*ournal of

*A*griculture

*F*aculty



*Isparta University of Applied Sciences
Journal of Agriculture Faculty*

**Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Ziraat Fakültesi Dergisi**

Volume 19, Issue 2, Year 2024

ISSN: 1304-9984 | e-ISSN: 2687-3419

This journal is indexed by the following abstracting and indexing databases

Crossref, Directory of Research Journals Indexing (DRJI), Google Scholar, Academic Resource Index, Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Sobiad, Base, FAO Agris, Academic Researches Index, CAB Abstracts, EBSCO

DERGİ HAKKINDA

Ziraat Fakültesi Dergisi (ISUBÜ ZFD), yayın hayatına 2006 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi yayıncılığında başlamıştır. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesinin 2018 yılında kurulması ile dergi 2019 yılından itibaren yeni yayıncı kimliği ile yayın hayatına devam etmektedir. Dergi, temel ve uygulamalı tarım biliminin herhangi bir konusu hakkında yeni bilgi, gelişmiş uygulamalar ve tarımın multidisipliner entegrasyonu ile ilgili içgörü sağlayan derlemeler ve bilimsel ilerlemeleri içeren yüksek kaliteli özgün (orijinal) araştırma makalelerini kabul etmektedir. Yılda iki sayı yayımlanan ulusal-uluslararası hakemli-indeksli bir dergidir. Yayımlanmak üzere gönderilen bütün makaleler; hakemler ve editörler tarafından değerlendirilir. Dergiye yayımlanmak için gönderilen makalelerden herhangi bir değerlendirme ve başvuru ücreti alınmamakta, aynı zamanda yayınlanan makalelere açık erişimle kayıtlı ve tam metin olarak indirilebilir.

ABOUT THE JOURNAL

Journal of Agriculture Faculty (JAF) started its publication life in 2006 under the publishing of Süleyman Demirel University. With the establishment of Isparta University of Applied Sciences in 2018, the journal continues its publishing life with its new publisher identity since 2019. The journal accepts high quality original research articles on any topic of basic and applied agricultural science, including reviews and scientific advances that provide insights into new knowledge, advanced practices and multidisciplinary integration of agriculture. The journal is a national-international peer-reviewed-indexed journal published twice a year. All articles submitted for publication are evaluated by referees and editors. No evaluation and application fee are charged for articles submitted to the journal for publication, and at the same time, published articles can be registered and downloaded in full text with open access.

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Doğu Yerleşkesi, Ziraat Fakültesi, 32200 Çünür/Isparta

Tel: +90 246 2146247 Faks: +90 246 2146399

Web: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sduzfd>



ISPARTA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES
JOURNAL OF AGRICULTURE FACULTY

Privilege Owner

Prof. Dr.

Deniz YILMAZ

Isparta University of Applied Sciences Faculty of Agriculture Dean's Office
-Türkiye-

Editor in Chief

Prof. Dr.

Hasan ÖZ

Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Associate Editor

Assoc. Prof. Dr.

Pelin ALABOZ

Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Editorial Boards

Prof. Dr.

Hakan KULEAŞAN

Suleyman Demirel University
-Türkiye-

Prof. Dr.

Umut TOPRAK

Ankara University
-Türkiye-

Prof. Dr.

Handan VURUŞ

AKÇAÖZ
Akdeniz University
-Türkiye-

Prof. Dr.

Mehmet Serhat

ODABAŞ
Ondokuz Mayıs University
-Türkiye-

Assoc. Prof. Dr.

Alessandro D'EMİLİO

University of Catania
-Italy-

Assoc. Prof. Dr.

Timuçin EVEREST

Çanakkale Onsekiz Mart
University
-Türkiye-

Assoc. Prof. Dr.

Seda ŞAHİN

Selçuk University
-Türkiye-

Assoc. Prof. Dr.

Cihan KARACA

Akdeniz University
-Türkiye-

Assoc. Prof. Dr.

Mehmet Ali SARIDAŞ

Çukurova University
-Türkiye-

Assoc. Prof. Dr.

İlker SÖNMEZ

Akdeniz University
-Türkiye-

Assoc. Prof. Dr.

Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

Akdeniz University
-Türkiye-

Asst. Prof. Dr.

Markéta MIHÁLIKOVÁ

Czech University
-Czechia-

Asst. Prof. Dr.

Ali KESHAVARZI

University of Tehran
-Iranian-

Asst. Prof. Dr.

Aydın ATAKAN

Gaziantep University
-Türkiye-

Dr.

Calogero SCHILLACI

European Commission;
Joint Research Center
-Italy-

Publication Boards

Prof. Dr.

Vecdi DEMİRCAN

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Adnan YILDIRIM

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Hülya ÖZGÖNEN

ÖZKAYA
Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Sevil KARAASLAN

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Sema KALE ÇELİK

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Muharrem KAYA

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

İbrahim ERDAL

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Duygu KAŞIKÇI

Isparta University of Applied
Sciences
-Türkiye-

Prof. Dr.

Yaşar KARAKURT

Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Statistics Editors

Assoc. Prof. Dr.
Yasin ALTAY
Eskişehir Osmangazi University
-Türkiye-

Asst. Prof. Dr.
Rabia ALBAYRAK DELİALİOĞLU
Ankara University
-Türkiye-

Foreign Language Editor

Assoc. Prof. Dr.
Deniz SARICA
Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Publication and Technical Editor

Res. Assist.
Fuat KAYA
Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Writing Editor

Dr.
Aslı DALGIÇ
Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Layout Editors

Res. Assist.
Nazlı ERDOĞAN
Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Res. Assist.
Alper OTLU
Isparta University of Applied Sciences
-Türkiye-

Contents	Pages
Research Articles	
Pirinadan Elde Edilmiş Kompost ve Vermikompostun Marul Bitkisinin Mineral Beslenmesine ve Gelişimine Etkisi..... <i>The Effect of Compost and Vermicompost Obtained from Pomace on the Mineral Nutrition and Development of Lettuce Plant</i> Muvahhid KILIÇARSLAN, Ali COŞKAN	1-15
Burdur İli Fasulye Alanlarından Toplanan <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari:Tetranychidae) Popülasyonlarında Spiromesifen ve Tebufenpyrad Çapraz Direnç ilişkisi..... <i>Cross-Resistance Relationship between Spiromesifen and Tebufenpyrad in Tetranychus urticae Koch (Acari:Tetranychidae) Populations Collected from Bean Fields in Burdur Province</i> Sibel YORULMAZ, Hüseyin KAPLAN, Orhan KAYA	16-22
Determination Some of Macro, Trace and Heavy Elements in Medicinal Fruits and Herb Consumed as a Functional Food in Turkey..... <i>Türkiye’de Fonksiyonel Gıda Olarak Tüketilen Tıbbi Meyve ve Bitkilerde Bazı Makro, Eser ve Ağır Elementlerin Belirlenmesi</i> Asuman KAN, Ayşegül KORKMAZ	23-29
TR 71 Bölgesinin Patates Üretiminde Yakıt Kaynaklı Karbondioksit Emisyonu ve Projeksiyon Tahmini..... <i>Carbon Dioxide Emissions Based on Fuel in Potato Production in TR 15 Region and Projection Estimate</i> Ebubekir ALTUNTAŞ	30-38
Composition of Secondary Endosymbiont Bacteria in Two Whitefly Species (<i>Hemiptera: Aleyrodidae</i>)..... <i>İki Beyazsinek Türünde (Hemiptera: Aleyrodidae) Sekonder Endosimbiont Bakterilerin Kompozisyonu</i> Zülal TAT, Erhan KOÇAK	39-46
Isolation and Characterization of Some Genes Involved in Essential Oil Synthesis in Endemic Sütçüler Thyme (<i>Origanum minutiflorum</i>)..... <i>Endemik Sütçüler Kekliğinde (Origanum minutiflorum) Uçucu Yağ Sentezinde Rol Oynayan Bazı Genlerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu</i> Civan ÇELİK, Yaşar KARAKURT	47-59
Patates Patojenleri <i>Fusarium sambucinum</i> ve <i>Rhizoctonia solani</i> ’ye Karşı Bazı Uçucu Yağların Kullanım Olanaklarının Araştırılması..... <i>Investigation of the Usage Possibilities of Some Essential Oils Against Potato Pathogens Fusarium sambucinum and Rhizoctonia solani</i> Şerife Evrim ARICI, Arif ŞANLI, Raziye Dilara ÇAPA	60-74
Maş Fasulyesi (<i>Vigna radiata</i> L.) Tohumlarında <i>Callosobruchus maculatus</i> F. (<i>Coleoptera: Chrysomelidae</i>) Zararı Üzerine Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) Uçucu Yağının Etkisi..... <i>The Effect of Fennel (Foeniculum vulgare Mill.) Essential Oil on Callosobruchus maculatus F. (Coleoptera: Chrysomelidae) Damage in Mung Bean (Vigna radiata L.) Seeds</i> Zühranur ALDEMİR, Ruziye KARAMAN, Cengiz TÜRKAY, Ali Kemal BİRGÜCÜ	75-84
Sığır Gübresi ve Sığır Gübresi Kaynaklı Bokashi Kompostlarının Marulun Gelişimi ve Yaprak SPAD Değerlerine Etkisi..... <i>Effect of Cow Manure and Bokashi Composts Derived from Cow Manure on the Lettuce Growth and Leaf SDAP Values</i> İbrahim ERDAL, Cennet YAYLACI, Şevkiye Armağan TÜRKAN, Rahmi MERJİ	85-93
Determination of The Antifungal Capacity of Kefir Components Against Spoilage Fungi..... <i>Kefir Bileşenlerinin Bozulma Küflerine Karşı Antifungal Kapasitesi</i> Tuğba KÖK TAŞ, Kübra KÜÇÜKSOKU, Nilüfer Sena AYDOĞDU, Meryem ATEŞ	94-104

Isparta Gülü ile Üretilen Kombucha İçeceğinin Fizikokimyasal, Fonksiyonel ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	105-118
<i>Determination of The Physicochemical, Functional and Sensory Properties of Kombucha Beverage Produced with Isparta Rose</i>	
Nimet ÇAKIROĞLU, Kader ORAL, Bilge ERTEKİN FİLİZ	
Kentsel Arıtma Çamurunun Ispanak Bitkisinin Gelişimi ve Mineral Besin Elementi İçeriğine Etkisi.....	119-127
<i>The Effect of Sewage Sludge on the Growth and Mineral Nutrient Content of Spinach</i>	
Erhan Recep İNCE, Figen ERASLAN İNAL	
Response of Rose (<i>Rosa damascena Mill.</i>) Oil Components to Different Irrigation Water and Nitrogen Applications.....	128-140
<i>Farklı Sulama Suyu ve Azot Uygulamalarının Gül Yağı (Rosa damascena Mill.) Bileşenlerine Etkisi</i>	
Yusuf UÇAR, Soner KAZAZ, Figen ERASLAN İNAL, Hasan BAYDAR, Sabri ERBAŞ	

Pirinadan Elde Edilmiş Kompost ve Vermikompostun Marul Bitkisinin Mineral Beslenmesine ve Gelişimine Etkisi

Muvahhid KILIÇARSLAN¹  Ali COŞKAN¹ 

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Öz

İçerdiği fenolik bileşikler ve alıcı ortamlarda oluşturduğu yüksek kimyasal oksijen ihtiyacı nedeniyle çevreye olumsuz etkileri olabilecek pirina olarak adlandırılan zeytinyağı üretim atığının tarımsal amaçla kullanımına yönelik bir saksı denemesi yürütülmüştür. Bu amaçla hazırlanan %50 pirina, %45 hayvan gübresi ve %5 dolomit içeren başlangıç karışım ikiye bölünerek yarısı doğal halde bırakılmış (kompost) diğer yarısı ise 150 adet *Eisenia fetida* aşılansız (vermikompost), ve elde edilen her iki materyal 69 gün süreyle laboratuvar koşullarında inkübe edilmiştir. Elde edilen vermikompost ve kompost, 0, 1000, 2000 ve 4000 kg da⁻¹ dozlarında toprağa karıştırılarak saksılara yerleştirilmiş ve üzerinde marul bitkisi yetiştirilmiştir. Deneme sonuçları, karışımdaki fenolik madde miktarının azaltılmasında solucanların daha etkili olduğunu gösterse de bu etkinin istatistiki olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Ancak, bu substratlardaki fenolik bileşiklerin marul bitkisine geçişi incelendiğinde kompostun %45 daha fazla fenolik madde geçişine neden olduğu, vermikompostun bu geçişi azalttığı belirlenmiştir. Marul verimi yönünden vermikompost ve kompost arasında fark bulunmamıştır ($p < 0.05$). Bitkide fosfor konsantrasyonu kompost uygulamasında daha yüksek bulunurken Zn ve Mn konsantrasyonu vermikompost uygulamasında daha yüksek olmuştur. Hasat sonrasında toprakta kalan besin elementleri, özellikle 4000 kg da⁻¹ dozunda kontrolden oldukça yüksek düzeylerde besin elementi kaldığı belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, vermikompostun 1000 ve 2000 kg da⁻¹ dozunun marul yetiştiriciliğinde kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Article Info

Received: 15.05.2024

Accepted: 17.12.2024

Anahtar Kelimeler

Fenolik madde
Kompost
Marul
Pirina
Vermikompost

The Effect of Compost and Vermicompost Obtained from Pomace on the Mineral Nutrition and Development of Lettuce Plant

Abstract

A pot trial was carried out for the agricultural use of olive oil production waste pomace, which can have negative effects on the environment due to the phenolic compounds it contains and the high chemical oxygen demand it creates in the receiving environment. For this purpose, a mixture containing 50% pomace, 45% animal manure and 5% dolomite was divided into two parts, half of which was left in its natural state (compost) and the other half was inoculated with 150 *Eisenia fetida* (vermicompost), and both materials were incubated under laboratory conditions for 69 days. The vermicompost and compost were mixed with soil at doses of 0, 1000, 2000 and 4000 kg da⁻¹ and placed in pots and then lettuce plants were grown on them. The results of the experiment showed that earthworms were more effective in reducing the amount of phenolic matter in the mixture, but this effect was not statistically significant. However, the passage of phenolic compounds in the substrate to lettuce plants was 45% higher in compost, while vermicompost reduced this passage. Phosphorus concentration in the plant was higher in the compost treatment, while Zn and Mn concentrations were higher in the vermicompost treatment. When the nutrients remaining in the soil after harvest were analysed, it was determined that the nutrient levels were considerably higher than the control, especially at 4000 kg da⁻¹ dose. It can be said that 1000 and 2000 kg da⁻¹ doses of vermicompost can be used in lettuce cultivation.

Keywords

Compost
Lettuce
Olive pomace
Phenolic substance
Vermicompost



Corresponding Author
muvahhidkilicarslan@isparta.edu.tr

Giriş

Geçmişten günümüze barışın ve dostluğun simgesi olan zeytin ağacı, dünya üzerinde en eski bitkilerden biri olarak bilinmektedir. Meyveleri yaklaşık M.Ö. 2000-2500 yıllarında sıklıkla zeytinyağına

dönüştürülmüştür (Kapellakis vd., 2008). Dünya nüfusunun artmasıyla evsel, endüstriyel artık ve atıklarda aynı hızda artış meydana gelmektedir. Buna paralel olarak ülkemizde çok fazla yetiştiriciliği yapılan zeytin bitkisinin sıkım prosesi sonucu ortaya çıkan ve zeytin pirinası miktarı da giderek artmaktadır. Bu durum efektif kaynakların kullanımını zorunlu kılmaktadır. TÜİK verilerine göre yıllık yaklaşık 2.976.000 ton zeytin üretimi gerçekleşmekte, üretilen bu zeytinlerin 938.217 tonu sofralık olarak ayrılmakta, geriye kalan 2.037.783 tonu ise yağlık olarak kullanılmaktadır (TÜİK, 2022). Zeytinyağı üretimi sırasında, üç fazlı üretim sisteminde %45-50 ve iki fazlı üretim sisteminde %65-70 pirina oluşmaktadır. Türkiye’de yıllık 533.750-610.000 ton ham pirina elde edildiği öngörülmekte. Dünyada yıllık Pirina üretiminin 2.881.500 ton olduğu tahmin edilmektedir (Nunes vd., 2016). Elde edilen pirina miktarı yıldan yıla değişse de tarımda kullanımı açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Pirina su, yağ, selüloz, lignin, protein, çözülebilir karbonhidratlar ve fenol bileşikleri içermektedir. Bu yapısı uygun şekilde işlenirse, tarımda kullanılmak üzere organik bir gübre ya da çiftlik hayvanları için yem sanayinde destek katkı maddesi olacak şekilde ticari açıdan ekonomik değeri olan ürün olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Cayuela vd., 2010). Pirinanın hayvan yemi olarak kullanımı da mümkün olmakla beraber çeşitli nedenlerle kullanımı sınırlıdır (Alcaide vd., 2003; Keser ve Bilal, 2010). Biyokömür hammaddesi olarak kullanımı, üretiminde kullanılan ekipman ve yüksek enerji gereksinimi nedeniyle pek mümkün görülmemektedir (Alexander, 2000).

Zeytin atıklarının kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) evsel atıklardan 400 kat daha fazladır. Pirinanın gelişigüzel depolanmasının çevreye olan olumsuz etkileri bilinmekte (Kostas vd., 2020) olduğundan, çevreye zarar vermeyecek bir yöntemle yararlı hale getirilmesi zorunludur. Zeytin atıkları içerisinde yüksek oranda toplam fenolik madde bulunmakta olup bu maddeler fitotoksiktir. Bu sebeple tarım alanlarında direk kullanımı topraklar üzerinde büyük zararlar oluşturma potansiyelindedir. Zeytin atıklarının toprağa direk uygulanması yer altı su kaynaklarında da fenolik içeriğin artması suretiyle kirliliğe neden olabilmektedir (Hachicha vd., 2006). Yapılan çalışmalar, organik kirliliği bu denli yüksek olan zeytin atıklarının içindeki fitotoksik etkili bileşiklerin giderilmesi için kompostlama prosesinin başarıyla uygulanabileceğini göstermiştir (Ayhan ve Kulaz, 2016). Kompostlama sonrası toprağa karıştırılacak pirinanın bir yandan toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini iyileştireceği, diğer yandan çevre ve toprak sağlığına olumlu etkide bulunacağı değerlendirilmektedir.

Vermikompost teknolojisi dünyanın pek çok ülkesinde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Aslam vd., 2019). Vermikompost başlangıç materyali olarak her türü meyve, sebze, mutfak, sanayi artıkları gibi materyaller kullanılabilir (Yılmaz vd., 2017). Solucan gübresi kullanıldığı topraklarda fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik açıdan iyileşmeler meydana getiren güvenilir organik kaynaklı bir gübredir (Bellitürk, 2016). Başlangıç materyali için pirinanın uygun karışım oranları kullanıldığında, vermikompostlama sırasında ortamdaki solucan varlığının arttığı, besin elementi içeriği bakımından elde edilen ürünün başlangıç karışımına göre belirgin biçimde farklı olduğu belirlenmiştir (Göçmez, 2013). Solucanlar ile kompostlanan pirinanın toprağa etkileri, solucanlarla kompostlaştırılmamış pirinaya oranla çok daha yüksek olmaktadır (Hachicha vd., 2006).

Marul üretimi açısından Çin, Amerika Birleşik Devletleri, İspanya, Meksika ve Türkiye önemli ülkeler arasındadır (Mou, 2008). Organik gübrelerin marul verimine belirgin olumlu etkide bulunduğu (Demir vd., 2001; Demir vd., 2010; Polat vd., 2004), bu gübrelerin güçlü fide gelişimi sağladığı ancak karışımdaki fenolik maddelerin bitkiye geçebildiği (Martins vd., 2023) bildirilmiştir. Adiloğlu vd. (2018) yaptıkları çalışmalarında kıvrıkcık marulda vermikompostun artan dozlarının bitki boyu, yaş ağırlığı, yaprak sayısı, yaprak uzunluğu ve genişliğinde artış sağladığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, toprağın organik maddesini arttırmada kullanılmasına yönelik olarak zeytinyağı üretim atığı olan pirina ile hazırlanan bir başlangıç materyalinden aynı zaman aralığında vermikompost ve kompost elde edilmesi planlanmıştır. Aynı başlangıç materyalinden yola çıkılarak elde edilecek vermikompost ve kompost materyalleri arasında, fenolik madde içeriği, bu substratların ilave edildiği topraklarda yetiştirilecek marul bitkisine geçen fenolik madde miktarı, marulun verimi, beslenme durumu ve hasat

sonrası toprakta kalan besin elementi miktarlarında oluşacak farkların belirlenmesi çalışmanın hipotezini oluşturmaktadır.

Materyal ve Metot

Materyal

Saksı denemesi olarak yürütülen denemede kullanılan toprak, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi (ISUBÜ), Ziraat Fakültesi Araştırma Uygulama Çiftliğinden, üzerinde tarımsal üretim yapılmayan tarladan alınmıştır. Toprağın alındığı bölge Akdeniz iklimi ile karasal iklim geçit bölgesinde yer almaktadır. Denemede kullanılan toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Deneme toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

	Toprak Özelliği	Sonuç	Değerlendirme
%	Kum	29	
	Kil	21	Siltli Tın
	Silt	50	
dS m ⁻¹	pH (1:2.5)	7.75	Hafif alkali
	EC (1:2.5)	0,253	Hafif tuzlu
	%Kireç (Kalsimetrik)	27.2	Çok fazla kireçli
%	%OM (Walkley Black)	1.66	Az
	%N (Kjeldahl Yöntemiyle)	0.68	Çok az
	P (Olsen- Spektrofotometre)	12.2	Yeterli
mg kg ⁻¹	K (amonyum asetat yöntemiyle)	935.9	Fazla
	Ca (amonyum asetat yöntemiyle)	18161	Çok fazla
	Mg (amonyum asetat yöntemiyle)	1413	Fazla
	Fe (DTPA yöntemiyle-AAS)	18.4	Fazla
	Zn (DTPA yöntemiyle-AAS)	4.10	Fazla
	Mn (DTPA yöntemiyle-AAS)	45.6	Yeterli
	Cu (DTPA yöntemiyle-AAS)	5.06	Yeterli*

* tekstür, pH, kireç, om (Ülgen ve Yurtsever, 1974), ec (Richards, 1954) makro ve mikrolar ise (Kacar ve Inal, 2010).

Denemede hem geleneksel yöntemlerle yapılan kompost hem de solucan yardımıyla yapılan vermikompost için aynı başlangıç materyali kullanılmıştır. Bu amaçla hazırlanan başlangıç organik substrat karışımı %50 pirina, %45 hayvan gübresi ve %5 dolomitten oluşturulmuştur. Pirina bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2’de verilmiştir. Pirina Antalya’da 2 fazlı üretim yapan zeytinyağı üretim tesisinden, hayvan gübresi ISUBÜ Ziraat Fakültesine bağlı çiftlikten, dolomit ise Afyon/Dinar’da bulunan dolomit madeninden temin edilmiştir. Yürütülen çalışmada, Maipira (şakira) marul çeşidi kullanılmıştır. Marul fideleri üst ve alt noktadaki çapları 19.5 ve 13 cm, derinliği 13.5 cm olan 4 litrelik saksılara dikilmiştir.

Denemede solucan gübresi (vermikompost) üretiminde, halk arasında kırmızı kaliforniya solucanı olarak bilinen *Eisenia fetida* solucan türü kullanılmıştır.

Metot

Deneme, kompost ve vermikompost olmak üzere 2 farklı substratın 0 (kontrol), 1000, 2000, 4000 kg da⁻¹’a karşılık gelen dozlarının uygulanmasıyla 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Deneme planı Tablo 3’te verilmiştir.

Deneme kurulmadan önce saksılara 4’er kg toprak yerleştirilmiş, 150 mg kg⁻¹ 20.20.0 taban gübresi ve 200 mg kg⁻¹ azot, amonyum sülfat gübresi ile üst gübre olarak uygulanmıştır. Kompost ve vermikompost hazırlanan aynı başlangıç karışımının ikiye bölünmesinden sonra, kompost karışımının yarısının laboratuvar ortamında doğal haliyle vermikompost ise karışımın diğer yarısının içerisine 150 adet solucan karıştırıldıktan sonra inkübe edilmesi ile elde edilmiştir. Laboratuvar koşullarında solucan karıştırılmadan yapılan kompostlamada, karışımın miktar olarak az olması nedeniyle termofilik faz gözlenmemiş, tüm süreç mezofilik olarak devam etmiştir. Kompostlama süreci solucanlar ile yapılan kompostlama izlenerek sonuçlandırılmıştır.

Tablo 2. Zeytin pirinasının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Analiz Edilen Parametreler	Değer
Organik Madde (%)	96.67
pH (1/5 pirina-su)	5.58
EC (1/5 pirina-su) (dS m ⁻¹)	1.52
Nem (%)	9.05
Toplam N (%)	1.114
P (mg kg ⁻¹)	436.1
K (%)	0.36
Na (%)	0.003
Ca (%)	0.2
Mg (%)	0.035
Fe (mg kg ⁻¹)	116.2
Zn (mg kg ⁻¹)	3.124
Mn (mg kg ⁻¹)	04.21
Cu (mg kg ⁻¹)	11.05*

*pH, ec Anonymous (1978),Organik madde (Kacar 1995),makro ve mikrolar ise (Kacar ve İnal, 2010).

Tablo 3. Deneme planı

Uygulama	Doz (kg da ⁻¹)	Uygulama	Doz (kg da ⁻¹)
Kompost	0 (kontrol)	Vermikompost	0 (kontrol)
Kompost	1000	Vermikompost	1000
Kompost	2000	Vermikompost	2000
Kompost	4000	Vermikompost	4000

Böylece solucan kullanılarak ve kullanılmadan yapılan kompostlama işleminde eşit zaman aralığında, pirinadan kaynaklanan fenol içeriğinde meydana gelen azalmanın belirlenmesi mümkün olmuştur. Solucanlar çeşitli organik bileşikler ile bazı metallerin yoğun olduğu ortamlardan kaçma eğilimindedirler. Bu nedenle, bu karışım elde edilmeden önce, solucanların fenol bileşiklerinden kaçınacağı öngörüsünden hareketle, solucanlara uygun karışım oranlarını belirlemek üzere bir dizi ön deneme yürütülmüştür. Solucanlar için uygun karışım oranlarının belirlenmesinde, solucan kaçınma testi (ISO, 2008) kullanılmıştır. Yapılan bir dizi test sonucunda solucanların %50 pirina + %45 hayvan gübresi + %5 dolomit karışımından kaçınmadıkları görülmüş ve başlangıç materyalinin oluşturulmasında bu oranlar kullanılmıştır.

Karışım hazırlandıktan sonra doygunluğun %50'sine getirilecek kadar çeşme suyu uygulanmıştır. Bu aşamadan sonra, solucanların derileri ile solunum yapması ve dolomit uygulamasının ortamdaki asit ile etkileşerek CO₂ çıkaracağı bilgileri doğrultusunda, oluşan hızlı CO₂ çıkışının tamamlanması için karışım 3 gün boyunca laboratuvarında bekletilmiştir. Bundan sonra elde edilen karışımdan 2 adet 1'er kg tartılmış ve yukarıda belirtildiği üzere 1 kg'ı doğal halde bırakılmış, diğer 1 kg'a 150 adet solucan aşılanmıştır. Kompostlama süresinin tamamlanması solucan davranışlarını izleyerek belirlenmiştir. Deneme kurulduktan 69 gün sonra solucanların ortamdan kaçma eğilimleri başlamış, kompost üretimi her iki grup (kompost/vermikompost) için sonlandırılmıştır. Elde edilen materyallerin nem içerikleri dikkate alınarak saksılara verilecek miktarları tartılmış ve saksılara homojen olarak karıştırılmıştır. Kompostlama süresince farklı günlerde alınan toplam fenolik madde analizleri (Singleton ve Rossi, 1965) yapılarak kompostlamanın fenol kapsamındaki değişime etkileri belirlenmiştir.

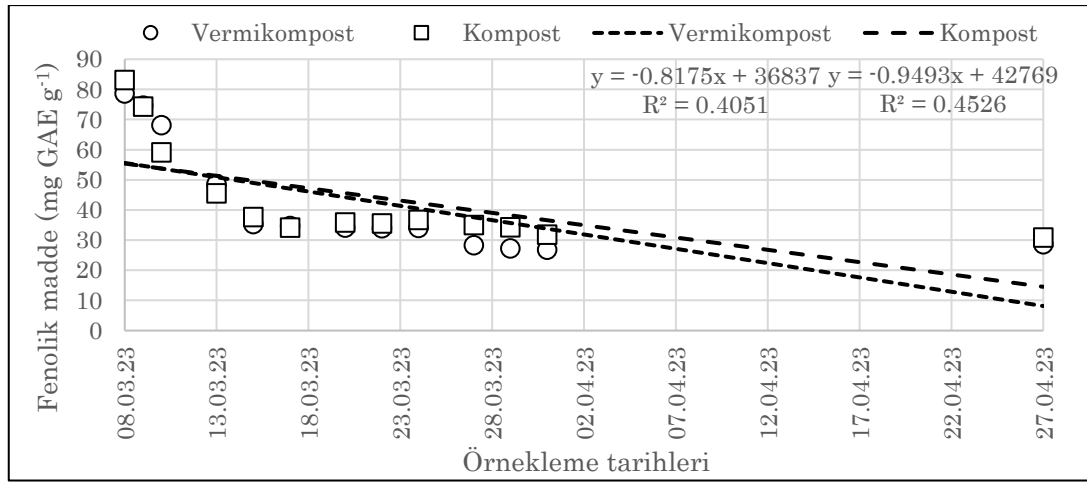
Bitkiler dikildikten 60 gün sonra toprak seviyesinin hemen üstünden kesilerek, kökler ise toprak ıslatılarak dikkatli bir şekilde çıkarılıp tartılmış, diğer ölçüm ve gözlemler yapılmıştır. Bundan sonra örnekler 65 °C sıcaklıkta etüvde kurutulmuş, öğütülerek analize hazır hale getirilmiştir. Bitki örneklerinde makro ve mikro element analizleri Kacar ve İnal (2010), denemede kullanılan toprağın analizleri ise Kacar ve Katkat (2015) tarafından bildirilen yöntemlerle yapılmıştır. Kroma, HUE ve SPAD ölçümlerin tümü, en dış yaprakтан 2 veya 3 yaprak içerde yer alan, tesadüfi olarak seçilen yapraklarda yapılmıştır. Kroma ve HUE değeri PCE-CSM 1 renk ölçer ölçüm cihazı ile yapılmıştır. SPAD değeri ise SPAD-502 klorofilmetre cihazı kullanılarak, Kroma ve HUE okuması yapılan yapraklarda ölçülmüştür. Denemeden elde edilen veriler Minitab paket

programında, tesadüf parselleri deneme deseni uyarınca varyans analizine tabi tutulmuş, $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunan parametreler Tukey testi ile gruplandırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Fenolik madde bulguları

Denemede kullanılan vermikompost ve kompostun fenol içeriğindeki değişim, kompostlama sürecinde zamana bağlı olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Bu amaçla karışımlar hazırlanıp, solucan aşılama işlemi tamamlandıktan sonraki 1., 2., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 17., 19., 21. ve 48. günlerde alınan örneklerde fenolik madde analizi yapılmıştır. Sonuçlar elde edilirken 17., 19. ve 21. günlerde elde edilen değerlerin nispeten birbirine yakın olması nedeniyle ölçüm aralığı uzatılmış, 48. günde yapılan analizde de sonuçların belirgin biçimde değişmediği görüldüğünden fenol analizlerine son verilmiştir.



Şekil 1. Kompostlama süresince substratlarda belirlenen fenolik madde içerikleri

Sonuçlar (Şekil 1) genel olarak solucan kullanımının solucan kullanılmaması durumuna göre fenol içeriğini daha fazla azalttığını göstermiştir. Toplam 13 kez yapılan ölçümlerden 2., 3., 5. ve 9. günlerde solucan kullanılmayan kompostlamada daha düşük fenol değerleri belirlenmiş, 3. günde fark 9 g GAE (Gallik Asit Eşdeğeri) g⁻¹ değerine ulaşmıştır. Diğer ölçüm günleri olan 2., 5., ve 9. günlerde belirlenen farklar ise 0.3, 3.1 ve 0.5 g GAE g⁻¹ gibi 3.gün ölçümlerine göre oldukça düşük düzeyde bulunmuştur. Değerler incelendiğinde, sürecin başlangıcında görülen bu salınının kaybolduğu ve solucanların etkisinin belirginleştiği söylenebilir. vermikompost, geleneksel komposta kıyasla fenolik maddelerin parçalanmasında daha etkili olduğunu vermikompostun solucanlar tarafından fenolik bileşiklerin ayrışmasını ve bitkiler için besin kullanılabilirliğini artıran yüksek mikrobiyal aktiviteden yararlandığını bildirmişlerdir (Rehman vd., 2023). Vermikompost ve kompost uygulamalarının ortalama fenol içerikleri üzerine etkisi istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Hasat dönemi sonrasında bitkilere geçen fenol miktarlarını belirlemek için bitki örneklerinde yapılan fenolik madde analizleri sonuçlar Tablo 4'te verilmiştir.

Elde edilen değerler incelendiğinde hem vermikompost kompost/ (VK/K) uygulamalarının hem dozların, hem de VK/K x Doz interaksiyonunun $p < 0.001$ düzeyinde etkili olduğu görülmüştür. Ortalama değerler itibarıyla vermikompost ve kompost karşılaştırıldığında kompost uygulanan topraklardan bitkiye fenolik madde geçişinin, vermikompost uygulamasına göre %45 daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum büyük olasılıkla ortamda bulunan fenolik madde içeriğinin (Şekil 1) solucanların salgısıyla bir şekilde bağlanması ve bitkiye geçişinin azaltılması şeklinde gerçekleşmektedir. Ortalama değerler bakımından dozlar incelendiğinde artan dozların fenolik madde içeriğini artırdığı görülmekte ise de, VK/K x Doz interaksiyonları incelendiğinde, vermikompostun 1000 ve 2000 dozlarının bitkinin fenol içeriği üzerine kontrol uygulamasına kıyasla istatistiki olarak etkili olmadığına ($p > 0.05$), ortalamada görülen bu anlamlı

etkinin kompost uygulamasının ilk dozundan itibaren meydana gelen önemli artışlardan kaynaklandığına işaret etmektedir. Bunning vd., (2010) marul bitkisinin toplam fenolik madde içeriğinin 66 – 212 mg g⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise vermikompost uygulamasında bitkideki toplam fenolik madde içeriğinin 71 – 84 mg GAE g⁻¹ arasında değiştiği, kompost uygulamalarında ise değişimin 74 – 158 mg GAE g⁻¹ aralığında olduğu görülmüştür. Ayrıca fenolik madde içeriği üzerine sebzenin çeşidinin, uygulanan azot miktarının, uygulama şeklinin, toprak ve iklim şartlarının etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada sözü edilen farklar bulunmadığından, bitkide belirlenen fenolik madde miktarı tamamen kompostlamanın solucan ile veya solucan olmadan yapılması ile ilintilidir. Substratların fenolik madde içeriği (Şekil 1) ile bitkiye geçen fenolik madde sonuçları (Tablo 4) bir arada değerlendirildiğinde, solucan ile kompostlama sonucunda, substratın fenolik madde içeriğinde istatistiki düzeyde azalma gözlenmese dahi, solucan kullanımının bitkiye fenolik madde geçişinde etkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgudan hareketle organik gübre elde ederken pirina kullanılması durumunda, termofilik fazı da içeren tam bir kompostlama sürecini takiben solucan aşılmasının, bitkide substrattan kaynaklanan fenolik madde artışına neden olmayabileceği söylenebilir.

Tablo 4. Bitki örneklerinin fenolik madde içerikleri (mg GAE g⁻¹)

Dozlar (kg da ⁻¹)	Vermikompost	Kompost	Ortalama
0	78 d	74 d	76 C
1000	71 d	115 b	93 B
2000	76 d	100 bc	88 B
4000	84 cd	158 a	121 A
Ortalama	77 B	112 A	
ANOVA			
F _{VK/K}	212.39 ***		
F _{Doz}	64.38 ***		
F _{VK/KxDoz}	49.69 ***		

Verim ve biyokütle ile ilgili bulgular

Uygulamaların marul bitkisinin hasat sonrası verimine (taze bitki ağırlığı), yeşil aksam ve kök kuru ağırlıklarına, marulun boyuna ve enine ilişkin elde edilen sonuçlar Tablo 5'te verilmiştir. Taze ağırlık sonuçları ortalama değerler itibarıyla incelendiğinde 178 g ile kompost uygulamasından daha yüksek değerlerin elde edildiği ancak istatistiki olarak vermikompost ile kompost uygulamaları arasında anlamlı fark oluşmadığı görülmüştür. Dozlar arasında ise 1000 ve 2000 kg da⁻¹ dozlarında kontrol (0 dozu) uygulamasına göre daha yüksek değerlerin elde edildiği, dozun 4000 kg da⁻¹'a çıkması durumunda elde edilen bu olumlu artışın kaybolduğu tespit edilmiştir. En yüksek doz olan 4000 kg da⁻¹ dozunun ortalama değerler itibarıyla verimi azaltması ve bitkinin fenolik madde içeriğini (Tablo 4) artırması, bu dozun seçilmemesi gerektiğine işaret etmektedir.

Vermikompostun artan dozlarının bitki verimini azalttığı Frasetya vd., (2019) tarafından bildirilmiştir. Benzer şekilde Tavalı vd., (2013) tarafından yürütülmüş olan çalışmada vermikompostun karnabaharda mineral beslenme yönünden olumlu etkisinin olduğu, ancak seçtikleri en yüksek vermikompost dozunun verimde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamaları bir arada değerlendirildiğinde, en yüksek değerlerin 186 g ile vermikompost uygulamasının 2000 kg da⁻¹ dozunda olduğu belirlenmiştir. Adiloğlu vd., (2018)'in çalışmasında marulun yaş ağırlığının 123-143 g arasında değiştiği ve bitki yaş ağırlığı yönünden vermikompost uygulamasında kontrole oranla artışın meydana geldiğini bildirmişlerdir. Literatürdeki verilerle uyumlu olarak bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda, 4000 kg da⁻¹ dozu hariç olmak üzere vermikompost uygulamasının önerilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Vermikompost uygulamasında daha yüksek değerlerin elde edilmesinin vermikompostun çeşitli faydalı hormonları içermesi (Yılmaz vd., 2017), solucanların ortamın C/N oranını düşürmesi (Dominguez vd., 2010) ve buna bağlı olarak daha fazla besin elementinin serbestleşmesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Yeşil aksam kuru ağırlıkları incelendiğinde, ortalama değerler itibarıyla kompost uygulamasının vermikompost

uygulamasından daha fazla yeşil aksam kuru ağırlığını artırdığı görülmüştür ($p < 0.05$). Verim değerlerinde ise böyle bir fark görülmemiştir. İnteraksiyonlar arasında en yüksek değer kompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda görülürken, ikinci yüksek değer vermikompostun aynı dozunda görülmüştür. Gerek verimde neden olduğu azalma ve gerekse yüksek fenol içerikleri nedeniyle 4000 kg da⁻¹ dozları hariç tutulursa, kuru ağırlık bakımından en yüksek değer vermikompostun 2000 kg da⁻¹ dozu ile kompostun 1000 kg da⁻¹ dozlarında olduğu söylenebilir. Kök kuru ağırlığı değerlerinin yeşil aksam kuru ağırlığı ile benzer olduğu ancak kök kuru ağırlıkları arasında da istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadığı görülmüştür. Stancheva ve Mitova (2002) marul bitkisine vermikompost uygulanması sonucu marulda kuru madde ağırlığında artış olduğunu bildirmiştir. Bu bulgunun aksine, Ali vd., (2007) vermikompostun tek başına etmen olarak kullanıldığı yetiştirme ortamında bitki kuru ağırlığının en düşük verime sahip olduğunu bildirilmişlerdir. Literatürdeki verilerle uyumlu olarak bu çalışmadan elde edilen veriler, vermikompostun 4000 kg da⁻¹ dozu haricinde kontrole göre hem vermikompostta hem de kompostta artış belirlenmiştir. Hernández vd., (2010) marulun bitki boyunun vermikompost uygulamasından daha çok mineral gübreden etkilendiğini bildirmişlerdir. Adiloğlu vd., (2018) ise marul bitki boyunun 24.2-26.6 cm arasında değiştiğini ve bitki boyu açısından vermikompost uygulamalarının kontrole göre önemli artış sağladığını, yüksek vermikompost dozlarının ise bitki boyunda azalmaya neden olduğunu rapor etmiştir. Ortalama değerler itibariyle vermikompost uygulaması marul bitkisinin yaprak eni üzerinde olumsuz etkide bulunmuş ($p < 0.05$), kompost uygulamasında daha yüksek yaprak eni değerlerine ulaşılmıştır. Ortalama doz değerleri arasında sadece 4000 kg da⁻¹ dozunda istatistiki düzeyde bir azalma görülmüş, diğer dozlar arasında ise anlamlı farklar görülmemiştir. İnteraksiyon değerleri arasında en düşük değer vermikompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda belirlenmiş, diğer tüm değer arasında istatistiki olarak önemsiz farklar belirlenmiştir.

Tablo 5. Marul verimi, yeşil aksam ve kök kuru ağırlığı, marul boyu ve eni

Materyal	Dozlar	Verim	Yeşil aksam kuru ağırlık	Kök kuru ağırlık	Marul boyu	Marul eni
	kg da ⁻¹	g bitki ⁻¹	g		Cm	
Vermi- kompost	0	170	16.3 ab	1.27 ab	12.1	13.0 a
	1000	185	17.0 ab	1.32 ab	12.3	12.9 a
	2000	186	18.9 ab	1.35 ab	12.5	13.9 a
	4000	168	15.6 b	0.89 b	11.8	8.8 b
Kompost	0	172	16.8 ab	1.36 ab	12.3	13.6 a
	1000	184	18.9 ab	1.09 ab	13.3	13.7 a
	2000	182	17.6 ab	1.13 ab	12.9	13.1 a
	4000	173	18.9 a	1.45 a	12.5	13.1 a
Ortalamalar						
Vermikompost		177	16.9 B	1.21	12.2	12.1 B
Kompost		178	18.0 A	1.26	12.8	13.4 A
Dozlar	0	171 B	16.6	1.31	12.2	13.3 A
	1000	185 A	17.9	1.20	12.8	13.3 A
	2000	184 A	18.3	1.24	12.7	13.5 A
	4000	170 B	17.2	1.17	12.1	10.9 B
ANOVA						
F _{VK/K}		0	4.37 *	0.31	4.49	9.35 **
F _{Doz}		6.34 **	1.97	0.41	1.41	9.26 ***
F _{VK/K x Doz}		0.45	3.28 *	3.68 *	0.30	7.07 **

*Küçük harfler interaksiyonu büyük harfler ortalamayı ifade etmektedir. Farklı harflerle temsil edilen uygulamalar arasında fark vardır. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

Kroma, HUE ve SPAD değerleri

Marul bitkisinde ölçülen kroma, HUE ve SPAD değerleri Tablo 6'da verilmiştir. Marul bitkisinde ölçülen kroma değerleri ortalamalar üzerinden değerlendirildiğinde, vermikompost ve kompost uygulamaları arasında anlamlı bir farkın bulunmadığı belirlenmiştir.

Tablo 6. Belirlenen Kroma, HUE ve SPAD değerleri

Materyal	Dozlar (kg da ⁻¹)	Kroma değeri	HUE değeri	SPAD değeri
Vermikompost	0	31.0	89	31.3
	1000	36.4	108	31.9
	2000	37.5	107	35.2
	4000	34.7	105	36.0
Kompost	0	29.9	90	32.8
	1000	33.6	96	33.3
	2000	36.6	106	32.0
	4000	38.0	105	32.7
Ortalamalar				
Vermikompost		34.9	102	33.6
Kompost		34.5	100	32.7
Dozlar	0	30.4 B	90 B	32.0
	1000	35.0 AB	102 AB	32.6
	2000	37.0 A	107 A	33.6
	4000	36.3 A	105 A	34.4
ANOVA				
F _{VK/K}		0.10 ^{ÖD}	0.64 ^{ÖD}	0.81 ^{ÖD}
F _{Doz}		6.06 *	5.96 *	1.06 ^{ÖD}
F _{VK/K x Doz}		1.18 ^{ÖD}	0.84 ^{ÖD}	1.80 ^{ÖD*}

* Küçük harfler interaksiyonu büyük harfler ortalamayı ifade etmektedir. Farklı harflerle temsil edilen uygulamalar arasında fark vardır. *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05

Ortalamalar itibariyle dozlar arasında ise hem 2000 kg da⁻¹ hem de 4000 kg da⁻¹ dozlarında en yüksek değerler elde edilmiş, tüm dozlarda kontrol uygulamasına göre artış kaydedilmiştir. İnteraksiyon değerleri önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Kroma değeri büyüdükçe rengin doygunluğu artmakta olup bu istenilen bir durumdur. Eşiyok vd., (2006), yaprak kroma değerinde sadece gübrelemenin etkili olmadığını, yaprak klorofil içeriği, ortamdaki ışık şiddeti ve yaprak büyüklüğü gibi faktörlerin de etkili olduğunu bildirmiştir. HUE değerleri ile kroma değerleri arasında tam bir uyum belirlenmiş, vermikompost ve kompost uygulamalarının ortalamaları ile interaksiyonlar arasında anlamlı farklar görülmemiştir. İstatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte en yüksek HUE değeri 108 ile vermikompost uygulamasının 1000 kg da⁻¹ dozunda belirlenmiştir. En düşük değerler ise kontrol uygulamalarında görülmüş, tüm dozlar kontrole göre HUE değerini artırmıştır. HUE değerlerine göre yaprak renklerinin yeşile yakın bir renkte olduğu görülmektedir. Çağlar (2014) tarafından yapılan çalışmada ise marulda HUE değerinin 146.7 ile 147.6 gibi çok dar bir aralık arasında olduğunu bildirilmişlerdir. Çalışmadan elde edilen değerler (Tablo 6) incelendiğinde ise vermikompost uygulamalarında değerlerin 89–108 arasında, kompost uygulamasında ise 90–106 arasında olduğu görülmektedir. Klorofil içeriği ile ilintili sonuçlar veren SPAD değerleri incelendiğinde, uygulama ve doz ortalamaları ile interaksiyonlar arasında farkların bulunduğu, ancak bu farkların istatistiki düzeyde anlamlı olmadığı görülmüştür. Tüm dozlar SPAD değerini kontrole göre artırmıştır. Marulda SPAD ölçümü yapılan çalışmalarda SPAD değerinin 21.7–25.8 (Bilgi, 2009), 25–40 (Akbay, 2012), 33.97–38.83 (Kul, 2014) ve 14.9–27.1 (Solak, 2016) arasında olduğu bildirilmiştir. Burada belirlenen sonuçlar ise SPAD değerlerinin vermikompost uygulamasında 33.1–36.0 arasında, kompost uygulamasında ise 32.0–33.3 arasında olduğunu göstermiştir.

Bitkide belirlenen bazı makro ve mikro element konsantrasyonları

Analize hazır hale getirilen bitki örneklerinde N, P, K, Mg, Zn, Mn ve Cu analizleri yapılmış, elde edilen sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir. Yaprak azot konsantrasyonu değerleri ortalamalar itibariyle incelendiğinde vermikompost ve kompost uygulamaları arasında %0.03 gibi son derece düşük bir farkın olduğu belirlenmiştir. Ortalama değerler itibariyle dozlar incelendiğinde ise kontrol uygulamasına göre tüm dozların bitkinin azot konsantrasyonunu artırdığı görülmüştür. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamaları bir arada değerlendirildiğinde, en yüksek azot konsantrasyonunun vermikompost uygulamasının 1000 ve 2000 kg da⁻¹ dozlarında, kompost uygulamasında ise 4000 kg da⁻¹ dozunda olduğu görülmüştür. Bu sonuçtan hareketle azot konsantrasyonu yönünden vermikompost uygulamasının daha

düşük dozlarının, kompost uygulamasının daha yüksek dozları kadar azot kapsamını artırdığı söylenebilir. Karademir (2019), vermikompost uygulamasının marulun azot kapsamını kontrole göre %53'e varan düzeyde artırdığını bildirmiştir. Uygulamaların marul bitkisinin fosfor konsantrasyonuna etkisi incelendiğinde ortalama değerler itibarıyla kompost uygulamasında vermikompost uygulamasından daha yüksek değer elde edildiği görülmüştür. Dozlar arasında ise kontrol (0 dozu) dozuna göre 4000 kg da⁻¹ dozlarında daha yüksek fosfor konsantrasyonu elde edilmiştir. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamaları bir arada değerlendirildiğinde ise en yüksek değer kompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda olduğu görülmüştür. Brito vd., (2014) kireç, kompost ve ham kaya fosfatının organik marul gelişimi ve besin alımı etkileri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında marul bitkisinin N, P ve K içeriklerinin arttığını, en yüksek artışın kompost uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir.

Tablo 7. Bitkide belirlenen N, P, K, Mg, Zn, Mn ve Cu konsantrasyonları

Materyal	Dozlar	N	P	K	Mg	Zn	Mn	Cu							
	kg da ⁻¹	%				mg kg ⁻¹									
Vermikompost	0	3.67 ab	0.283 bc	3.70	0.261 bc	24.2 cd	73.9 b	11.3							
	1000	4.26 a	0.263 bc	4.81	0.261 bc	21.8 cd	53.5 bc	12.9							
	2000	4.21 a	0.242 c	4.47	0.250 c	43.9 a	26.5 d	4.8							
	4000	3.74 ab	0.310 ab	4.26	0.422 a	27.5 bc	100.2 a	8.8							
Kompost	0	3.43 b	0.261 bc	3.47	0.330 b	18.1 d	63.9 b	19.7							
	1000	4.13 ab	0.277 bc	4.79	0.309 bc	24.3 cd	76.3 ab	12.5							
	2000	4.11 ab	0.307 ab	4.38	0.328 b	34.4 b	35.4 cd	8.3							
	4000	4.33 a	0.365 a	5.27	0.313 bc	18.0 d	38.6 cd	8.4							
Ortalamalar															
Vermikompost		3.97	0.275 B	4.31	0.299	29.4 A	63.5 A	9.5							
Kompost		4.00	0.303 A	4.48	0.320	23.7 B	53.6 B	12.2							
Dozlar	0	3.55 B	0.272 B	3.59 B	0.296 B	21.1 B	68.9 A	15.5 A							
	1000	4.19 A	0.270 B	4.80 A	0.285 B	23.1 B	64.9 A	12.7 AB							
	2000	4.16 A	0.275 B	4.43 AB	0.289 B	39.2 A	31.0 B	6.6 B							
	4000	4.04 A	0.338 A	4.77 A	0.368 A	22.7 B	69.4 A	8.6 AB							
ANOVA															
F _{VK/K}		0.09	ÖD	11.28	**	0.34	ÖD	4.14	ÖD	20.17	***	8.01	*	1.72	ÖD
F _{Doz}		8.64	***	15.40	***	3.82	**	13.51	***	44.76	***	27.6	***	3.60	*
F _{VK/K x Doz}		3.54	*	5.64	**	0.97	ÖD	16.86	***	5.01	**	27.6	***	0.99	ÖD*

* Küçük harfler interaksyonu büyük harfler ortalamayı ifade etmektedir. Farklı harflerle temsil edilen uygulamalar arasında fark vardır. *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05

Toprağa vermikompost uygulaması yapılan çalışmalarda toprakta fosfor mineralizasyonunun arttığı bildirilmiştir (Hashemimajd vd., 2004; Arancon vd., 2006; Uma ve Malathi, 2009). Durak vd., (2017) marul bitkisinde vermikompost uygulamasının fosfor konsantrasyonunu artırdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmaların aksine Adiloğlu vd., (2018) marul bitkisine vermikompost uygulamasının fosfor konsantrasyonunu artırmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise hem kompost hem de vermikompost uygulamalarının marul bitkisinin fosfor konsantrasyonunu üzerine istatistiki olarak anlamlı düzeyde etki ettiği görülmüştür. Potasyum değerleri incelendiğinde ortalama değerler itibarıyla kompost uygulamasının potasyum konsantrasyonunu artırdığı ancak artışın anlamlı olmadığı (p>0.05) görülmüştür. Yine ortalama değerler itibarıyla dozlar arasında kontrolün en düşük değere sahip olduğu belirlenmiştir. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamaları bir arada değerlendirildiğinde en yüksek değer kompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda olduğu ancak interaksyonlar arasında belirlenen farkların önemli olmadığı (p>0.05) görülmüştür. Adiloğlu vd., (2018) tarafından marul bitkisinde yapılan çalışmada kontrol grubu ve vermikompost uygulamaları arasında potasyum konsantrasyonu yönünden önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Özen (2018) tarafından marulda artan dozda vermikompost uygulamasının potasyum konsantrasyonunu azalttığı bildirmiştir. Çıtak vd., (2011) vermikompostun toprak reaksiyonu üzerine etkili olduğunu, buna bağlı olarak yüksek dozların N, P, K ve Mg konsantrasyonu üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen potasyum değerleri Jones vd., (1991) tarafından bildirilen yeterlilik sınırlarına göre vermikompost ve kompost uygulamalarında marul bitkisinin yaprak potasyum içeriklerinin noksan seviyede olduğu görülmüştür. Uygulamaların marul bitkisinin yaprak

magnezyum konsantrasyonuna etkilerine ilişkin sonuçlar ortalama değerler itibariyle incelendiğinde, vermikompost uygulamasında daha yüksek Mg konsantrasyonu değerlerinin elde edildiği görülmüştür. Ancak istatistiki olarak vermikompost ile kompost uygulamaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Yine ortalama değerler itibariyle dozlar arasında en yüksek magnezyum konsantrasyonu 4000 kg da⁻¹ dozunda belirlenmiştir. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamalarının etkileşimleri değerlendirildiğinde ise en yüksek değer vermikompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda olduğu tespit edilmiştir. Jones vd., (1991) marul bitkisinin magnezyum konsantrasyonunun %0.30- 0.50 aralığında noksan, %0.50-0.80 arasında yeterli, %0.80 ve üzerinde ise fazla olduğunu belirtmiştir. Bu değerler doğrultusunda vermikompostun 4000 kg da⁻¹ dozunda belirlenen Mg değeri yeterli, diğer tüm dozlardaki değerler ise noksan sınıfında yer almaktadır. Durak vd., (2017) marula vermikompost uygulamasının Mg konsantrasyonunu kontrol uygulamasına göre artırdığını, 300 kg da⁻¹ dozunda en yüksek değere ulaştıklarını bildirmişlerdir. Bu sonuç, burada sonuçları verilen denemede seçilen en düşük dozun dahi vermikompost uygulaması için yüksek olmuş olabileceğini çağrıştırmaktadır. Diğer yandan bu çalışmada vermikompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozu haricindeki uygulamalarda Mg konsantrasyonunda önemli bir artışın olmadığı tespit edilmiştir. Benzer biçimde Adiloğlu vd., (2018) kontrol ve vermikompost dozları uygulamaları arasında magnezyum konsantrasyonu bakımından önemli bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Belirlenen Zn değerleri ortalama değerler itibariyle incelendiğinde vermikompost uygulamasının Zn konsantrasyonunu belirgin biçimde artırdığı görülmüştür. Dozlar arasında ise en yüksek çinko konsantrasyonu 2000 kg da⁻¹ dozundan elde edilmiştir. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamalarının etkileşimleri değerlendirildiğinde ise en yüksek Zn konsantrasyonunun vermikompost uygulamasının 2000 kg da⁻¹ dozunda olduğu tespit edilmiştir. Ali vd., (2007) çinko konsantrasyonu artırmada vermikompostun, komposttan daha etkili olduğunu bildirmiştir. Hernández vd., (2010) marulun çinko konsantrasyonunun organik gübrelerden çok mineral gübrelerden etkilendiğini ve bitkinin çinko konsantrasyonunun 35 – 45 mg kg⁻¹ arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Benzer biçimde Hınıslı (2014) kıvrıcık marulda vermikompost uygulamalarının bazı dozlarında en düşük çinko konsantrasyona ulaşıldığını, genel olarak bitkinin çinko konsantrasyonlarının 17.1 ile 62.9 mg kg⁻¹ arasında değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Durak vd., (2017) ise vermikompost uygulamasının çinko konsantrasyonu artırdığını ve bu artışın uygulama dozu artışı ile uyumlu olduğunu, çinko konsantrasyonlarının 23.1 ile 54.9 mg kg⁻¹ arasında değiştiğini, en yüksek çinko konsantrasyonuna 300 kg da⁻¹ vermikompost uygulamasında ulaşıldığını belirlemiştir. Jones vd., (1991) marul bitkisinde çinko konsantrasyonu 20–24 mg kg⁻¹ aralığında noksan seviyede, 25–250 mg kg⁻¹ arasında yeterli, 250 mg kg⁻¹ ve üzerinde ise fazla miktarda olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen çinko konsantrasyonlarının yeterli sınıfına girdiği belirlenmiştir. Mangan konsantrasyonlarına ilişkin ortalama değerler itibariyle kompost uygulamasından daha yüksek değerler elde edilmiştir. Dozlar arasında ise en yüksek mangan konsantrasyonun 4000 kg da⁻¹ dozunda olduğu görülmüştür. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamaları bir arada değerlendirildiğinde en yüksek mangan değerinin vermikompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda olduğu tespit edilmiştir. Hernández vd., (2010) marul bitkisi kullanarak yürüttükleri çalışmalarında mangan konsantrasyonunun 44–65 mg kg⁻¹ arasında değişiklik gösterdiğini, en yüksek mangan konsantrasyonuna ise vermikompost uygulamasında ulaşıldığını bildirmişlerdir. Hınıslı (2014), marul bitkisinin mangan konsantrasyonunu 9.9–25.5 mg kg⁻¹ aralığında bulmuştur. Bu bulgulardan farklı olarak Özen (2018) organik materyal uygulama dozuna bağlı olarak marul bitkisinin yaprak mangan konsantrasyonunu azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler vermikompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozu haricinde, doz artışına bağlı olarak mangan konsantrasyonunda azalma meydana geldiğini göstermiştir. Jones vd., (1991), marul bitkisinin mangan konsantrasyonunun 10–14 mg kg⁻¹ aralığında noksan, 15–250 mg kg⁻¹ arasında yeterli, 250 mg kg⁻¹ ve üzerinde ise fazla miktarda olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında değerlendirildiğinde, belirlenen mangan konsantrasyonlarının yeterli seviyede olduğu görülmüştür. Yaprak bakır konsantrasyonu sonuçları ortalama değerler itibariyle incelendiğinde, vermikompost uygulamasında daha yüksek bakır değerlerinin elde edildiği görülmüştür. Dozlar incelendiğinde ise uygulama dozları arttıkça bakır konsantrasyonunun azaldığı, en yüksek değer kontrol uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Dozlar ile vermikompost ve kompost uygulamaları bir arada değerlendirildiğinde en yüksek değer

vermikompost uygulamasının kontrol dozunda olduğu görülmüştür. Artan organik gübre dozlarına bağlı olarak gözlenen bakır konsantrasyonundaki azalmanın azot ve fosfor alımının bitkide büyümeyi artırması sonucu seyrelmeye neden olması ile açıklanabilir (Kacar ve Katkat, 2015). Vermikompost uygulamalarının maydanoz bitkisinin bakır konsantrasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Eryüksel, 2016). Çalışmadan elde edilen sonuçlar bakır içeriklerinin yeterli (Jones vd., 1991) seviyede olduğunu göstermektedir.

Hasat sonrası toprakta belirlenen makro ve mikro element konsantrasyonları

Hasat tamamlandıktan sonra saksılarda kalan toprakların besin elementi konsantrasyonları analiz edilmiştir. Bu amaçla her bir saksıdaki toprak homojen olarak karıştırılmış, alınan örneklerde seçilen makro ve mikro elementlerin yarayışlı formları analiz edilmiştir. Belirlenen N, P, K, Mg, Fe, Zn, Mn ve Cu konsantrasyonları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Hasat sonrası toprakta belirlenen N, P, K, Mg, Fe, Zn, Mn ve Cu konsantrasyonları

Materyal	Dozlar kg da ⁻¹	N	P	K	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
		%				mg kg ⁻¹			
Vermikompost	0	0.173	48.9 c	626	222	5.41 e	3.43 b	26.8 ab	2.04
	1000	0.202	63.5 bc	586	215	6.72 cd	2.36 cd	25.0 ab	2.49
	2000	0.191	90.3 a	589	238	7.98 ab	2.45 cd	28.6 ab	2.70
	4000	0.225	86.9 a	735	259	6.84 bc	5.25 a	22.0 b	4.06
Kompost	0	0.170	49.1 c	630	205	5.48 de	3.49 b	25.3 ab	1.98
	1000	0.097	66.3 b	630	212	6.12 cde	1.92 d	23.7 ab	2.41
	2000	0.214	68.6 b	726	191	7.27 bc	2.54 cd	24.2 ab	2.30
	4000	0.265	78.1 ab	727	231	8.73 a	2.86 bc	29.7 a	2.64
Ortalamalar									
Vermikompost		0.198	72.4 A	634	234 A	6.74	3.37 A	25.6	2.82
Kompost		0.186	65.6 B	678	210 B	6.90	2.70 B	25.7	2.33
Dozlar	0	0.171 AB	49.0 C	628	213 B	5.44 C	3.46 B	26.1	2.01 B
	1000	0.149 B	64.9 B	608	214 B	6.42 B	2.14 C	24.4	2.45 AB
	2000	0.203 AB	79.5 A	658	215 B	7.63 A	2.50 C	26.4	2.50 AB
	4000	0.245 A	82.5 A	731	245 A	7.78 A	4.06 A	25.9	3.35 A
ANOVA									
F _{VK/K}		0.25 ^{ÖD}	10.26 **	1.53 ^{ÖD}	8.70 **	0.84 ^{ÖD}	29.83 ***	0.01 ^{ÖD}	3.39 ^{ÖD}
F _{Doz}		3.36 *	51.56 ***	2.26 ^{ÖD}	3.75 *	37.40 ***	51.05 ***	0.41 ^{ÖD}	4.46 *
F _{VK/K x Doz}		2.04 ^{ÖD}	6.73 **	0.85 ^{ÖD}	1.29 ^{ÖD}	11.16 ***	22.94 ***	3.62 *	1.43 ^{ÖD*}

*Küçük harfler interaksyonu büyük harfler ortalamayı ifade etmektedir. Farklı harflerle temsil edilen uygulamalar arasında fark vardır. *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05

Toprakta belirlenen azot konsantrasyonları arasında belirgin farklar bulunmuş olmakla beraber, dozlar dışında bu farkların istatistiki olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Tablo 8; p>0.05). Doz ortalamaları, toprakta kalan azot miktarının uygulamalardan etkilendiğini göstermiş, en yüksek artış azotun en yüksek organik substrat uygulamalarında olduğu görülmüştür. Ortalama değerler itibariyle vermikompost uygulamasında daha yüksek fosfor bulunduğu, dozlar arasında 2000 ve 4000 kg da⁻¹ dozlarının diğerlerinden daha fazla fosfor içerdiği, interaksyonlar arasında ise en yüksek değer vermikompostun 2000 ve 4000 kg da⁻¹ dozlarında olduğu tespit edilmiştir. Potasyum konsantrasyonu bakımından değerler arasında istatistiki olarak anlamlı düzeyde farklar görülmemiştir. Ancak genel eğilim artan dozların toprakta kalan potasyumu artırdığı yönündedir. Magnezyum konsantrasyonları incelendiğinde, interaksyonların istatistiki olarak önemli olmadığı, ortalamalar itibariyle vermikompost uygulamasında daha yüksek Mg kaldığı, dozlar arasında 4000 kg da⁻¹ dozunun ön plana çıktığı ve diğer dozlar arasında fark bulunmadığı görülmüştür. Toprakta hasat sonrasında dahi önemli miktarda besin elementi kalmış olması, organik gübrelerin yavaş yavaş mineralize olması ve içerisindeki besin elementini yavaş yavaş salması (Chaoui vd., 2003) ile ilgilidir. Diğer yandan toprakta organik madde bulunması, toprakta fosforun yarayışsız hale dönmesine engel olmakta (Kacar ve Kovancı, 1982), bu sayede hasat sonrası dahi toprakta var olan yarayışlı fosfor miktarı yüksek düzeyde bulunabilmektedir. Vermikompost uygulamalarında daha yüksek besin elementi bulunması ise vermikompostun mineralizasyonu artırması ile ilgilidir (Hashemimajd vd., 2004;

Arancon vd., 2006; Uma ve Malathi, 2009). Hasat sonrası toprakta belirlenen Fe konsantrasyonları (Tablo 8) uygulamalardan belirgin biçimde etkilenmiştir. Vermikompost ile kompost arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildir. Dozlar arasında en yüksek değerler 2000 ve 4000 kg da⁻¹ dozlarında bulunurken, interaksiyonlarda en yüksek değer kompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozundadır. En düşük değerler ise uygulama yapılmayan kontrol grubundan elde edilmiştir. Ortalama değerler itibariyle çinko konsantrasyonları incelendiğinde, vermikompost uygulanan topraklarda, kompost uygulanan topraklara nazaran %25 daha fazla çinko bulunduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Yine ortalama değerler bakımından dozlar incelendiğinde, 1000 ve 2000 kg da⁻¹ dozlarında, toprakta kalan çinko miktarının kontrolden dahi düşük olduğu, 4000 kg da⁻¹ dozunda ise en yüksek çinko değerine ulaşıldığı görülmüştür. İnteraksiyonlarda en yüksek değer vermikompostun 4000 kg da⁻¹ dozunda bulunmuştur. Mangan konsantrasyonu ortalama değerler itibariyle dozlar ve vermikompost-kompost uygulamaları arasında istatistiki düzeyde farklar görülmemiş ancak interaksiyonlar önemli bulunmuştur (p<0.05). İnteraksiyonlarda en yüksek değer kompost uygulamasının 4000 kg da⁻¹ dozunda görülmüştür. Cu içeriklerinde sadece doz ortalamaları önemli bulunmuş (p>0.05), artan dozlara bağlı olarak toprakta kalan bakır konsantrasyonları artmıştır. Hasat sonrası toprakta kontrole oranla yüksek miktarda mikro element bulunması yine Chaoui vd., (2003) tarafından bildirildiği üzere organik maddenin mineralizasyonu ile ilgilidir. Ayrıca vermikompost mikrobiyel faaliyet bakımından çok aktif olduğundan (Domínguez, 2010) kompostta göre mineralizasyon hızı daha yüksek olmuş olabilir. Bu durum vermikompost uygulamalarında daha yüksek makro ve mikro besin elementi bulunmasını açıklar niteliktedir. Diğer yandan toprakta bitkiler hasat edilse bile, topraklar tamamen kuruyuncaya kadar geçen sürede mineralizasyon devam etmektedir. Mineralizasyon sonucu açığa çıkan elementler nedeniyle de hasat sonrasında yüksek besin elementi kapsamı belirlenmiş olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç

Çalışmadan elde edilen sonuçlar genel olarak çalışmanın hipotezini doğrulamış, test edilen birçok parametrede vermikompost ve kompost arasında istatistiki düzeyde anlamlı farklar görülmüştür. Yüksek varyasyon nedeniyle istatistiki olarak anlamlı olmasa da başlangıç yığınının solucan aşılana kadar elde edilen vermikompost sürecinde fenolik madde içeriğindeki azalma eğilimi normal kompostta göre daha fazla olmuştur. Bu durum solucanların bulunduğu ortamda mikrobiyel aktivitenin de yüksek olması, mikroorganizmaların fenolik maddeleri parçalaması ile ilişkilendirilmiştir. Verim bakımından vermikompost ile kompost arasında anlamlı fark görülmemiştir. Ancak kuru ağırlık değerleri kompost uygulamasında daha yüksek olmuştur. Bitki yapraklarında belirlenen Kroma, HUE, SPAD değerlerinin hiçbirinde vermikompost ve kompost uygulamaları arasında istatistiki fark görülmemiş. Bu değerler ile biyomas parametreleri arasında hiçbir ilişki bulunmazken, besin elementeri arasında çok az sayıda anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu parametrelerin ölçümleri arasında farklar olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı bulunmaması ölçüm sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Hasat sonrası toprakta kalan besin elementleri yönünden elde edilen değerler incelendiğinde vermikompost uygulanan topraklarda daha fazla besin elementi kaldığı görülmüştür. Bu durum büyük olasılıkla solucan gübresindeki bazı enzimlerin mineralizasyonu hızlandırması ve solucan salgıları nedeniyle vermikompostun mikrobiyel olarak daha aktif olması ile ilişkilidir. Hasat sonrası analiz edilen parametreler arasında istatistiki olarak fark bulunan fosfor, magnezyum, çinko parametrelerinin tümünde vermikompost uygulamasından elde edilen değerler daha yüksek bulunmuştur. Belirlenen parametrelerin tamamına yakınında artan doz ile belirlenen özellik arasında uyum belirlenmiştir. Diğer deyişle elde edilen veriler kullanılarak herhangi bir özelliğin ulaşması istenilen düzey için doz hesaplaması mümkün olabilir. Ancak organik maddenin mineralizasyonunu etkileyen çevresel faktörlerin hassas bir hesaplama için olanak sağlamayabileceği de beklenmelidir. Dozlar bakımından vermikompost ile kompost arasında görülen ve vurgulanması gereken en önemli husus, vermikompostun yüksek dozlarının olumsuz etkilerinin görülmemesidir. Bu durum kompostta görülmezken vermikompost uygulamalarında çok kez ortaya çıktığı literatürdeki araştırmacılar tarafından da birçok kez dile getirilmiştir. Kompostlama sürecinin toplam süresi solucan davranışlarına bakılarak belirlendiği bu

çalışmada, 69 günün her ne kadar vermicompost eldesi için yeterli olsa da normal kompost üretimi için yeterli olmayabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan oda koşullarında kompost üretimi yapılmış olması ve yığının yeterince büyük olmaması nedenleriyle yığında termofilik faz gözlenmemiştir. Her ne kadar bu deneme kapsamında değerlendirilmemiş olsa da tam bir kompostlamanın ardından yığınlar solucan aşılmasının hem yığının fenolik madde kapsamının azaltılmasında hem de topraklara uygulama sonrası bitkiye fenolik madde geçişinin sınırlandırılmasında yarar sağlama potansiyelinde olduğu düşünülmektedir. Mevcut bulgular ışığında, pirinanın ana bileşen olduğu karışımdan solucanlar yardımıyla vermicompost elde edilmesinin ve bu vermicompostun 1000 ila 2000 kg da⁻¹ dozlarının kullanılmasının önerilebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Muvahhid KILIÇARSLAN'ın Yüksek Lisans Tezinde yer alan tüm veriler kullanılarak hazırlanmıştır. Yazarlar olarak tez jürisinde yer alan Prof. Dr. Figen ERASLAN İNAL ve Prof. Dr. İsmail TOSUN'a teşekkür ederiz.

Yazar Katkı Oranları

Muvahhid Kılıçarslan: Araştırma, Orijinal Taslak Yazımı, Görselleştirme, Ali Coşkan: Doğrulama, İnceleme ve Düzenleme, Denetim.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.


Kaynaklar

- Adiloğlu, S., Eryılmaz Açıkgoz, F., Solmaz, Y., Çaktü, E., & Adiloğlu, A. (2018). Effect of vermicompost on the growth and yield of lettuce plant (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*). *International Journal of Plant & Soil Science*, 21(1), 1-5. <https://doi.org/10.9734/IJPSS/2018/37574>
- Akbay, F. (2012). Farklı azot dozlarında yetiştirilen marulda (*Lactuca sativa* L.) *paenibacillus polymyxa* uygulamalarının verim, bitki gelişimi ve besin elementi içeriğine etkisi. (Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Alcaide, E. M., Ruiz, D. Y., Moumen, A., & Garcia, A. M. (2003). Ruminant degradability and in vitro intestinal digestibility of sunflower meal and in vitro digestibility of olive by-products supplemented with urea or sunflower meal: comparison between goats and sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 110(1-4), 3-15. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2003.08.002>
- Alexander, M. (2000). Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental science & technology*, 34(20), 4259-4265. <https://doi.org/10.1021/es001069>
- Anonymous. (1978). Torf für gartenbau und landwirtschaft (DIN 11542).
- Ali, M., Griffiths, A. J., Williams, K. P., & Jones, D. L. (2007). Evaluating the growth characteristics of lettuce in vermicompost and green waste compost. *European Journal of Soil Biology*, 43, 316-319. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.08.045>
- Arancon, N. Q., Edwards, C. A., & Bierman, P. (2006). Influences of vermicomposts on field strawberries: Part 2. Effects on soil microbiological and chemical properties. *Bioresource Technology*, 97(6), 831-840. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.016>
- Aslam, Z., Bashir, S., Hassan, W., Bellitürk, K., Ahmad, N., Niazi, N. K., Khan, A., Khan, M. I., Chen, Z., & Maitah, M. (2019). Unveiling the efficiency of vermicompost derived from different biowastes on wheat (*Triticum aestivum* L.) plant growth and soil health. *Agronomy*, 9(12), 791. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120791>
- Ayhan, H., & Kulaz, H. (2016). Peynir altı suyu ve zeytinyağı atıklarının tarımda gübreleme amaçlı kullanılabilirliği. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (1), 311-316. <https://doi.org/10.21566/tarbitderg.280212>

- Bellitürk, K. (2016). Sürdürülebilir tarımsal üretimde katı atık yönetimi için vermicompost teknolojisi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 31(3), 1-5.
- Bilgi, A. (2009). Bazı Hümik, Fulvik ve Amino Asit İçerikli Maddelerin Sera Marul (*Lactuca Sativa var. longifolia cv. Bitez F1*) Üretiminde Verim ve Bitki Gelişimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Brito, L. M., Monteiro, J. M., Mourão, I., & Coutinho, J. (2014). Organic lettuce growth and nutrient uptake response to lime, compost and rock phosphate. *Journal of Plant Nutrition*, 37(7), 1002-1011. <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.881858>
- Bunning, M. L., Kendall, P. A., Stone, M. B., Stonaker, F. H., & Stushnoff, C. (2010). Effects of seasonal variation on sensory properties and total phenolic content of 5 lettuce cultivars. *Journal of Food Science*, 75(3), 156-161. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01533.x>
- Çağlar, S. (2014). Fındık zuruf kompostu ve çay kompostu karışımlarının kıvrıcık marulda (*Lactuca sativa L. var. crispata*) verim ve kaliteye etkisi (Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A., & Roig, A. (2010). Two-phase olive mill waste composting: enhancement of the composting rate and compost quality by grape stalks addition. *Biodegradation*, 21, 465-473. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9316-5>
- Chaoui, H. I., Zibilske, L. M., & Ohno, T. (2003). Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(2), 295-302. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00279-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00279-1)
- Çıtak, S., Sönmez, S., Koçak, F., & Yaşın, S. (2011). Vermikompost ve ahır gübresi uygulamalarının ıspanak (*Spinacia oleracea var. L.*) bitkisinin gelişimi ve toprak verimliliği üzerine etkileri. *Derim*, 28(1), 56-69.
- Demir, E., Polat, E., Sönmez, S., & Kaplan, M. (2001). Farklı organik gübre uygulamalarının marulda verim, kalite ve bitki besin maddeleri alımına etkileri. *Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu*, 69.
- Demir, H., Polat, E., & Sönmez, İ. (2010). Ülkemiz için yeni bir organik gübre: solucan gübresi. *Tarım Aktüel*, 14, 54-60.
- Dominguez, J., Aira, M., & Gómez-Brandón, M. (2010). Vermicomposting: earthworms enhance the work of microbes. *Microbes at work: from wastes to resources*, 93-114. https://doi.org/10.1007/978-3-642-04043-6_5
- Durak, A., Altuntaş, Ö., Kutsal, İ. K., Işık, R., & Karaat, F. E. (2017). The effects of vermicompost on yield and some growth parameters of lettuce. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(12), 1566-1570. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i12.1566-1570.1461>.
- Eryüksel, S. (2016). Farklı oranlarda vermicompost uygulamasının bazı sebzelerin besin elementi içeriklerine olan etkileri. (Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Eşiyok D, Okur B, Tuncay Ö, Yağmur B, Uğur, A. (2006). Roka ve terede toplam glukozinolat miktarlarının ekim zamanı ve gübre formlarıyla değişiminin saptanması üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK Projesi No:2006-206.
- Frasetya, B., Harisman, K., Maulid, S., & Ginandjar, S. (2019). The effect of vermicompost application on the growth of lettuce plant (*Lactuca sativa L.*). *In Journal of Physics: Conference Series*, 1402 (3), 033050. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/3/033050>
- Göçmez, S. (2013). Karasu kekinin vermicompost üretiminde kullanım olanakları. *Tema Vakfı Ulusal Vermikültür Çalıştayı*, 16, 40-51.
- Hachicha, S., Chtourou, M., Medhioub, K., & Ammar, E. (2006). Compost of poultry manure and olive mill wastes as an alternative fertilizer. *Agronomy for Sustainable Development*, 26(2), 135-142. <https://doi.org/10.1051/agro:2006005>
- Hashemimajid, K., Kalbasi, M., Golchin, A., & Shariatmadari, H. (2004). Comparison of vermicompost and composts as potting media for growth of tomatoes. *Journal of Plant Nutrition*, 27(6), 1107-1123. <https://doi.org/10.1081/PLN-120037538>
- Hernández, A., Castillo, H., Ojeda, D., Arras, A., López, J., & Sánchez, E. (2010). Effect of vermicompost and compost on lettuce production. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70(4), 583-589. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392010000400008>
- Hınıslı, N. (2014). Vermikompost gübresinin kıvrıcık bitkisinin gelişmesi üzerine etkisinin belirlenmesi ve diğer bazı organik kaynaklı gübrelerle karşılaştırılması. (Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- ISO (International Organization for Standardization), (2008). Soil quality—Avoidance test for evaluating the quality of soils and the toxicity of chemicals. *Test with Earthworms (Eisenia fetida/andrei)*. ISO 17512-1, Geneva, Switzerland.
- Jones, J. B., Wolf, B., & Mills, H.A. (1991). Methods of plant analysis and interpretation. *Plant Analysis Handbook*, p. 1-213. Micro-Macro Publishing Inc. USA.
- Kacar, B., & İnal, A. (2010). Bitki Analizleri (2. Baskı). Nobel Yayınları, (1241), 123- 169.

- Kacar, B., & Kovancı, İ. (1982). Bitki, Toprak ve Gübrelerde Kimyasal Fosfor Analizleri ve Değerlendirilmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, (354), 352.
- Kacar, B. (1995). Bitki ve toprağın kimyasal analizleri III. Toprak Analizleri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları, Yayın No:3 Ankara.
- Kacar, B., & Katkat, V. A. (2015). Bitki Besleme Kitabı. Nobel Yayın No: 1219, Ankara s.659.
- Karademir, S. (2019). Farklı oranlarda vermicompost uygulamalarının marulda (*Lactuca sativa* L.) bitki gelişimi, kalite özellikleri ve besin elementi içeriği üzerine etkilerinin belirlenmesi, (Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., & Crowther, J. C. (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7, 1-26. <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9>
- Keser, O., & Bilal, T. (2010). Zeytin sanayi yan ürünlerinin hayvan beslemede kullanım olanakları. *Hayvansal Üretim*, 51(1), 64-72.
- Kostas, E. T., Durán-Jiménez, G., Shepherd, B. J., Meredith, W., Stevens, L. A., Williams, O. S., Lye, G. J., & Robinson, J. P. (2020). Microwave pyrolysis of olive pomace for bio-oil and bio-char production. *Chemical Engineering Journal*, 387, 123404. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123404>
- Kul, R. (2014). Balık gübresi, mineral gübre ve kombinasyonlarının marulda (*Lactuca sativa* L.) bitki gelişimi ve besin elementi içeriği üzerine etkisi, (Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Martins, T. C., Machado, R. M., Alves-Pereira, I., Ferreira, R., & Gruda, N. S. (2023). Coir-based growing media with municipal compost and biochar and their impacts on growth and some quality parameters in lettuce seedlings. *Horticulturae*, 9(1), 105. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010105>
- Mou, B. (2008). Lettuce. *Vegetables I: Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae*, 75-116. https://doi.org/10.1007/978-0-387-30443-4_3
- Nunes, M.A., Pimentel, F.B., Costa, A.S.G., Alves, R.C., & Oliveira, M.B.P.P. (2016). Olive byproducts for functional and food applications: challenging opportunities to face environmental constraints. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, 139-148.
- Özen, N. (2018). Marul bitkisinin verim ve kalitesi üzerine farklı mineralizasyon oranlarına sahip organik uygulamaların etkileri, (Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Polat, E., Onus, A., & Demir, H. (2004). Atık mantar kompostunun marul yetiştiriciliğinde verim ve kaliteye etkisi. *Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture*, 17(2), 149-154.
- Rehman, S. U., De Castro, F., Aprile, A., Benedetti, M., & Fanizzi, F. P. (2023). Vermicompost: Enhancing plant growth and combating abiotic and biotic stress. *Agronomy*, 13(4), 1134.
- Richards, L. A. (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils agriculture handbook*, 120. US Government Printing Office, US.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Solak, F. T. (2016). Çanak kale şartlarında tarla ve tünel altında kıvrık salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*) yetiştirme olanakları. (Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Stancheva, I., & Mitova, I. (2002). Effects of different sources and fertilizer rates on the lettuce yield and quality under controlled conditions. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 8(2), 157-160.
- Tavali, I. E., Maltaş, A. Ş., Uz, I., & Kaplan, M. (2013). The effect of vermicompost on yield, quality and nutritional status of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(2), 115-120.
- TÜİK, (2022). Bitkisel üretim istatistikleri, <https://data.tuik.gov.tr>, (Erişim tarihi: 28.10.2024)
- Ülgen, N., & Yurtsever, N. (1974). Türkiye gübre ve gübreleme rehberi. *Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü, Teknik Yayınlar Serisi*, 11 . Ankara.
- Uma, B., & Malathi, M. (2009). Vermicompost as a soil supplement to improve growth and yield of *Amaranthus* species. *Res J Agric Biol Sci*, 5(6), 1054-1060.
- Yılmaz, O., Doğuş, İ., & Yılmaz, Z. S. (2017). Kırmızı solucan gübresi kimyevi gübreye alternatif olabilir mi? *In 1st International Symposium on Multidisciplinary Studies and Innovative Technologies Proceedings Book*, 2(4), 246-247.

Burdur İli Fasulye Alanlarından Toplanan *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Popülasyonlarında Spiromesifen ve Tebufenpyrad Çapraz Direnç İlişkisi

Sibel YORULMAZ¹  Hüseyin KAPLAN¹  Orhan KAYA¹ 

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Öz

Bu çalışmada, 2023 yılı fasulye üretim sezonu boyunca Burdur ilinden toplanan *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (yeşil form) popülasyonlarında spiromesifen ve tebufenpyrad çapraz direnci araştırılmıştır. Burdur ilinde yoğun olarak fasulye üretimi yapılan Merkez, Çeltikçi ve Çavdır ilçelerinden sırasıyla 2, 2, 1 olmak üzere 5 adet *Tetranychus urticae* popülasyonu toplanmıştır. Popülasyonların direnç düzeylerinin belirlenmesinde kuru rezidü yöntemi kullanılmıştır. Denemelerde 7 insektisit dozu +1 kontrol grubu kullanılmıştır. Her grup 3 tekrürden oluşmuştur. Her tekrürde ise 25 adet ergin kırmızı örümcek dişi kullanılmıştır. Akarisitler ilaçlama kulesi kullanılarak 1 atm basınçta yaprak yüzeyine 2 ml olarak uygulanmıştır. Uygulama sonrası popülasyonlarda ölü-canlı sayımları 24 saat sonra yapılmıştır. *Tetranychus urticae* popülasyonlarında spiromesifen ve tebufenpyrad direnç oranları tarla popülasyonlarının LC50 değerlerinin hassas popülasyonun LC50 değerine oranlanması ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *Tetranychus urticae*'nin fasulye alanlarından toplanan B1, B2, B3, B4 ve B5 popülasyonlarında spiromesifen direnç oranları sırasıyla 98.1, 51.5, 177.1, 130.6 ve 53.6 kat; tebufenpyrad direnç oranları ise 2.3, 1.1, 1.8, 1.8 ve 1.0 kat olarak belirlenmiştir. Kırmızıörümcek popülasyonlarında spiromesifen ve tebufenpyrad arasında çapraz direnç belirlenmemiştir. Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, bu alanlarda *Tetranychus urticae* mücadelesinde spiromesifen kullanılmaması gerektiği, tebufenpyrad kullanımının ise daha doğru olacağı düşünülmektedir.

Article Info

Received: 03.07.2024

Accepted: 30.07.2024

Anahtar Kelimeler

Tetranychus urticae
Çapraz direnç
Tebufenpyrad
Spiromesifen

Cross-Resistance Relationship between Spiromesifen and Tebufenpyrad in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Populations Collected from Bean Fields in Burdur Province

Abstract

In this study, spiromesifen and tebufenpyrad cross-resistance was investigated in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) populations collected from Burdur province during the 2023 bean production season. In Burdur province, where beans are produce dintensively, 5 *Tetranychus urticae* populations were collected, 2 from the Central district, 2 from Çeltikçi district and 1 from Çavdır district. The dry residue method was used to determine the resistance levels of the populations. 7 insecticide doses + 1 control group were used in the trials. Each group consisted of 3 repetitions. There are 25 adult two spotted spider mite individuals in each replicate. Acaricides were applied to the leaf surface as 2 ml at 1 atm pressure using a spraying tower. After the application, dead and living counts in the populations were made after 24 hours. Spiromesifen and tebufenpyrad resistance ratios in *Tetranychus urticae* populations were determined by ratioing the LC50 values of the field populations to the LC50 value of the susceptible population. As a result of the study, spiromesifen resistance ratios of B1, B2, B3, B4 and B5 populations collected from bean fields of *Tetranychus urticae* were 98.1, 51.5, 177.1, 130.6 and 53.6 folds, respectively; tebufenpyrad resistance ratios were determined as 2.3, 1.1, 1.8, 1.8 and 1.0 folds. Cross-resistance between spiromesifen and tebufenpyrad has not been identified in two spotted spider mite populations. When the results are evaluated together, it is thought that spiromesifen should not be used in the control against *Tetranychus urticae* in these areas, and the use of tebufenpyrad would be more accurate.

Keywords

Cross resistance
Tebufenpyrad
Tetranychus urticae
Spiromesifen

Giriş

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), Leguminosae familyası içerisinde yer alan insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan bir bitkidir (Singh, 1999). Fasulye üretimi ülkemizde birçok ilde yapılmaktadır. Burdur ili, Akdeniz ılıman iklimi ile İç Anadolu karasal iklimi arasındaki geçiş bölgesinde yer alması, iklim ve toprak yapısının uygun olması sebebiyle fasulye yetiştiriciliği için uygun bir alandır. Uzun yıllardan beri bu bölgede fasulye yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu bölgede fasulye bitkisinde üretim sezonu boyunca başta kırmızıörümcekler olmak üzere birçok zararlı ile mücadele edilmektedir. *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), dünyada tarımsal alanlarda yayılmış, önemli zararlara yol açan polifag arthropod türlerden birini temsil etmektedir (Helle ve Sabelis, 1985). Bu zararlı tropikal ve ılıman bölgelerde 1.100'den de fazla bitki türü ile beslenebilmektedir (Bolland vd., 1998). *T. urticae* sokucu-emici ağız yapısı ile yaprakların mezofil hücrelerini delerek, bitki özsuyla beslenmektedir. Beslenme sonucu hücre ölümleri, doku nekrozları, yaprak dökülmeleri meydana gelmekte ve ürünlerin kalitesi düşmektedir (Jonckheere vd., 2016). Ayrıca bitkinin yaprakları ve gövdeleri arasında ince şeffaf bir ağ oluşturarak zarar derecesini artırmaktadır (Raimqulovich ve Khabibullaevich, 2022).

Tarımsal üretim alanlarında, kırmızı örümcekleri baskı altına almak için birçok akarisit sınıfı kimyasal mücadele kullanılmaktadır (Van Leeuwen vd., 2010). *T. urticae* ile kimyasal savaşta için spesifik dönemleri hedef alan farklı akarisit sınıfları geliştirilmiş ve ticarileştirilmiştir. *T. urticae* kısa yaşam döngüsü, güçlü üreme yeteneği, haploid-diploid cinsiyet belirleme özellikleri ve akarisitlerin sık kullanımları sebepleriyle etken maddelerin birçoğuna karşı direnç geliştirmiştir (Van Leeuwen ve Dermauw, 2016). "Arthropod Pesticide Resistance Database" veri tabanına göre *T. urticae* dünyada en çok direnç kazanan türler içinde 96 farklı kimyasala dirençle birinci sırada, laboratuvar ya da arazi koşullarında yapılan 150 çalışma sonucunda ise bildirilen 558 direnç kaydıyla ise ikinci sırada yer almaktadır (APRD, 2024).

Çapraz direnç, bir zararlı organizmanın bir tür insektisit/akarosite karşı geliştirdiği direncin, farklı insektisit/akarisitlere karşı da geçerli olması anlamına gelmektedir. Bu durum farklı insektisit/akarisit gruplarından bulunan etken maddelerin benzer veya ortak mekanizmaları hedeflediği durumlarda ortaya çıkabilmektedir (Grbic vd., 2011). Çapraz direnç, zararlı kontrolünde birçok etken maddenin etkisiz hale gelmesine yol açmakta ve sürdürülebilir mücadele başarısını azaltmaktadır. Ayrıca aynı etki mekanizmasına sahip akarisitlerin sürekli ve arka arkaya kullanımları, popülasyonda dirençli özelliklere sahip bireylerin artmasına ve bunun sonucunda da kontrol başarısızlığına yol açmaktadır (Adesanya vd., 2021). Zararlılarda çapraz direnç, etken maddelerin enzimlere tarafından detoksifiye edilmesi, etken madde duyarlılığının azalması ve/veya hedef bölge mutasyonları gibi sebeplerden oluşabilmektedir (Yu, 2008).

Spiromesifen; tetronik ve tetramik asit türevleri grubunun içinde yer alan bir akarisit (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008). Bu grup içerisinde yer alan etken maddeler yağ asidi sentezinin gerçekleştiği Krebs döngüsünde, lipid biyosentezini ve Asetilkoenzim A karboksilaz enzimini engelleyerek etki göstermektedir (Balkan, 2022). Lipid sentezi engelleyiciler, akarların tüm biyolojik dönemlerinde etkili olmaktadır. Spiromesifenin de içinde bulunduğu siklik ketoenoller, dünya çapında önemli bir pazar payına sahip, en yaygın kullanılan akarisit sınıflarından biridir (Van Leeuwen vd., 2015). İçerisinde tebufenpyrad etken maddesinin de yer aldığı METI I akarisitleri ise, NADH:ubikinonoksidoredüktaz'ı inhibe ederek mitokondriyal elektron taşıma sistemini bozmaktadır (Tomlin, 1997). METI I akarisitleri dünyada 1990 yılların başından beri tetranychid, tarsonemid ve eriophyd akarların tüm dönemlerine karşı kullanılmaktadır (Tomlin, 2003). Ayrıca ergin akarlar üzerindeki hızlı bir yok etme etkisi ve uzun süre kalıcı aktiviteleri nedeniyle, METI I akarisitleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Stumpf ve Nauen, 2001).

Bu çalışmada Burdur ili fasulye üretim alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında spiromesifen ve tebufenpyrad etken maddeleri için çapraz direnç ilişkisi incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Tetranychus urticae popülasyonları ve üretimleri

Fasulye tarlalarında 2023 yılı üretim sezonunda gözle kontrol yapılarak, *T. urticae* ile bulaşık olduğundan şüphelenilen yapraklar toplanarak plastik poşete konmuştur. Daha sonra bu poşetler örneklerin toplandığı yer adı ile etiketlenerek ve en geç 1 gün içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen *T. urticae* ile bulaşık taze fasulye yaprakları bulunan popülasyonlar iklim odasındaki temiz fasulye bitkileri (*Phaseolus vulgaris* L. var Pinto) üzerine aktarılmıştır. Burdur ilinde fasulye üretiminin en fazla yapıldığı Çeltikçi ve Merkez ilçelerden 2'şer adet, Çavdır ilçesinden ise 1 adet tarla popülasyonu toplanmıştır. Çeltikçi ilçesinden toplanan popülasyonlar B1 ve B2, Merkez ilçeden toplanan popülasyonlar B3 ve B4, Çavdır ilçesinden toplanan popülasyon ise B5 olarak adlandırılmıştır.

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü böcek yetiştirme odalarında 2001 yılından itibaren herhangi bir pestisite maruz kalmadan üretimi yapılan *T. urticae*'nin German Susceptible Strain (GSS) popülasyonu tarla popülasyonlarında direnç oranlarının belirlenmesi için karşılaştırma popülasyonu olarak kullanılmıştır. GSS ve tarla popülasyonları herhangi bir pestisit uygulaması yapılmadan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. var Pinto) bitkisi üzerinde 26±1 °C sıcaklıkta, % 50-60 oranlı nem ve florasan lambalar ile 16:8 saat aydınlık karanlık koşullarda üretilmiştir.

Akarisit

Çalışmada spiromesifen etkili maddeye sahip BİZANTION 240SC (Astronova) ve tebufenpyrad etkili maddeye sahip CROSHE %20 WP (Hektaş) ticari preparatları kullanılmıştır.

Bioassay ve çapraz direnç testi

Akar popülasyonları için tüm LC50 denemelerinde spiromesifen ve tebufenpyrad uygulamaları ergin bireylere yapılmıştır. Bu amaçla denemeler kurulmadan önce Petri içerisine alınan dişi bireylerin bırakmış oldukları yumurtalardan elde edilen aynı yaştaki ergin dişi bireyler kullanılarak denemede homojenlik sağlanmıştır. Toksikite testi için Rauch ve Nauen (2003) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Bu yöntemde seçilen akarisit içerisinde yayıcı yapıştırıcı olarak %0.1 oranında Tween içeren saf su içinde çözdürülerek stok hazırlanmış ve bu stoktan uygun seyretmeler (hazırlanan ilk dozdan itibaren ilaç konsantrasyonları %50 seyreltilerek) ile farklı dozlarda ilaç konsantrasyonları oluşturulmuştur. Her iki akarisit içinde tarla popülasyonlarında uygulama dozu belirlenirken ilk dozda %90'dan az kontrol grubunda ise %10'dan fazla ölüm olmaması dikkate alınmıştır. Uygulama öncesi tabanında agar bulunan 9 cm çapındaki Petriyer içerisine fasulye yapraklarından hazırlanan 3 cm'lik diskler yerleştirilmiştir. Denemeler 1 kontrol + 7 doz ve her dozda 3 tekrerrür olacak şekilde kurulmuştur. Her bir Petriye 25 adet ergin dişi birey aktarılmıştır. Deneme ilaçlarından hazırlanan uygun dozlardaki akarisit konsantrasyonları, ilaçlama kulesi (Burkard Scientific) kullanılarak 1 bar basınç altında yaprak yüzeyine 2 ml sıvı düşecek şekilde uygulanmıştır (1.95 ± 0.05 mg akarisit cm⁻²). Kontrole sadece saf su uygulaması yapılmıştır. Canlı-ölü sayımları uygulamadan 24 saat sonra gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerden yararlanarak farklı kırmızı örümcek popülasyonlarının LC50 değerleri POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software, 1994) hesaplanmıştır. Popülasyonların direnç oranları tarla popülasyonlarının LC50 değerlerinin, hassas popülasyonunun LC50 değerine oranlanması ile belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Tetranychus urticae tarla popülasyonları

Burdur ili fasulye üretim alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarının adları, toplanma yerleri, toplanma tarihleri ve koordinatları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Tetranychus urticae* popülasyonlarının toplanma yeri, toplanma tarihleri ve koordinatları.

Popülasyon adı	İlçe	Koordinat	Tarih
B1	Çeltikçi	37°31'13.0"N 30°24'51.0"E	20.07.2023
B2	Çeltikçi	37°30'34.0"N 30°25'38.0"E	20.07.2023
B3	Merkez	37°39'54.0"N 30°21'51.0"E	12.08.2023
B4	Merkez	37°40'01.0"N 30°22'09.0"E	12.08.2023
B5	Çavdır	37°09'25.0"N 29°39'00.0"E	15.08.2023

Toksosite sonuçları

Burdur ili fasulye üretim alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında spiromesifene karşı belirlenen LC50, eğim, df, X^2 değerleri ve direnç oranları Tablo 2'de verilmiştir. Spiromesifene karşı en yüksek direnç oranı B3 popülasyonunda 177.1 kat olarak bulunmuştur (Tablo 2). Spiromesifene karşı en düşük direnç oranı ise B5 popülasyonunda 53.6 kat olarak gerçekleşmiştir. Genel olarak Burdur ili Çeltikçi, Merkez ve Çavdır ilçelerinden toplanan iki noktalı kırmızı örümcek tarla popülasyonlarının tamamında spiromesifen için yüksek direnç belirlenmiştir. LC denemelerinden elde edilen eğim sonuçları popülasyonun homojen ya da heterojen yapısı ile ilgili bilgi vermektedir. Buna göre eğim değeri >2 olan popülasyonların daha homojen yapıda olduğu, <2 olan popülasyonların ise daha heterojen yapıda oldukları bilinmektedir (Yu, 2008). Heterojen yapıdaki popülasyonlarda tarla koşullarında etken maddeler için seleksiyon baskısı devam ettikçe direncin artma riski de devam etmektedir. Çalışmada *T. urticae*'nin tüm tarla popülasyonlarında spiromesifen için eğim değerlerinin <2 olması nedeniyle tarla koşullarında spiromesifen uygulamaları devam ettikçe direncin artabileceği düşünülmektedir.

Tablo 2. *Tetranychus urticae* popülasyonlarında spiromesifene karşı belirlenen LC50, eğim, df, x^2 değerleri ve direnç oranları.

Popülasyon	n*	Eğim±SH	LC ₅₀ (mga.i. L ⁻¹) (95% CL ^c)	df	x ²	Direnç Oranı
GSS	604	1.925±0.147	2.407 1.905–3.002	5	4.85	-
B1	613	1.530±0.133	236.203 159.592–311.841	5	1.89	98.1
B2	615	1.694±0.141	124.029 93.026–160.418	5	1.64	51.5
B3	610	1.729±0.160	414.508 319.017–555.201	5	3.64	177.1
B4	613	1.493±0.124	314.546 237.945–411.864	5	3.98	130.6
B5	614	1.717±0.149	129.004 98.277–167.064	5	3.65	53.6

n*: denemede kullanılan birey sayısı

Burdur ili fasulye üretim alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında tebufenpyrada karşı belirlenen LC50, eğim, df, X^2 değerleri ve direnç oranları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. *Tetranychus urticae* popülasyonlarında tebufenpyrada karşı belirlenen LC50, eğim, df, x^2 değerleri ve direnç oranları.

Popülasyon	n*	Eğim±SH	LC ₅₀ (mga.i. L ⁻¹) (95% CL ^c)	df	x ²	Direnç Oranı
GSS	600	2.951±0.267	0.002 0.001–0.005	5	15.65	-
B1	610	2.163±0.175	0.006 0.003–0.009	5	14.90	2.3
B2	615	2.708±0.240	0.003 0.002–0.005	5	18.60	1.1
B3	623	2.054 ± 0.162	0.005 0.003–0.008	5	10.23	1.8
B4	610	2.005±0.162	0.005 0.002–0.010	5	15.26	1.8
B5	614	2.350±0.224	0.002 0.001–0.003	5	10.57	1.0

n*: denemede kullanılan birey sayısı

T. urticae'nin tarla popülasyonlarında tebufenpyrad için direnç oranları 1.0 – 2.3 kat arasında değişmiştir. Genel olarak Burdur ili Çeltikçi, Merkez ve Çavdır ilçelerinden toplanan iki noktalı kırmızı örümcek tarla popülasyonlarının tamamında tebufenpyrad için bir direnç gelişimi belirlenmemiştir. Ayrıca *T. urticae*'nin tüm tarla popülasyonlarının tamamında tebufenpyrad için eğim değerleri >2 olarak belirlenmiştir. *Tetranychus urticae*'nin tarla popülasyonlarında homojen bir yapı bulunması nedeniyle tebufenpyrada karşı direnç gelişiminin daha uzun vadede olabileceği düşünülmektedir.

Tetranychus urticae'de spiromesifen ve spirodiklofenin içerisinde yer aldığı siklik ketoenollere karşı direnç belirlenen çalışmalar literatürde yer almaktadır. Rauch ve Nauen (2003), *T. urticae*'de 13 kat spirodiclofen direnci bulduklarını bildirmişlerdir. Demaeht vd. (2013) 680 kat spirodiclofen dirençli *T. urticae* popülasyonunun aynı grupta yer alan spiromesifen ve spirotetramat akarisitlerine karşı da çapraz direnç geliştirebileceğini bildirmişlerdir. Yorulmaz Salman ve Kaplan (2014) domates seralarından topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında spiromesifen'e karşı 8.16-22.82 kat direnç belirlemişlerdir. Sato vd. (2016) spiromesifen ile 20 kez selekte ettikleri *T. urticae* popülasyonunda 121 kat direnç belirlemişlerdir. İnak vd. (2023) karanfil seralarından topladıkları *T. urticae*'nin SM popülasyonunda 30 kattan fazla, SD popülasyonunda ise 6 kat spiromesifen direnci bulduklarını bildirmişlerdir. Abubakar vd. (2023) *T. urticae* popülasyonunda spiromesifene karşı 71.70 kat direnç belirlemişlerdir. Han vd. (2024) sebzelerden toplanan *T. urticae*'de spirodiklofen ve spiromesifene karşı sırasıyla 46.5 ve 24.0 kat direnç bulduklarını bildirmişlerdir. Literatürle benzer şekilde bizim çalışmamızda da *T. urticae* popülasyonlarında orta-yüksek seviyede spiromesifen direnci belirlenmiştir. Burdur ili fasulye üretim alanlarında kırmızı örümcek kontrolü için sık aralıklarla yapılan spiromesifen ve spirodiclofen uygulamalarının bu durumu ortaya çıkardığı düşünülmektedir.

Tetranychus urticae'de tebufenpyradın içerisinde yer aldığı METI I akarisitlere karşı direnç belirlenen çalışmalar literatürde yer almaktadır. Elma bahçesinden toplanan *T. urticae* popülasyonunda tebufenpyrad, pyridaben ve fenpyroximate'a karşı sırasıyla 63, 210 ve 25 kat direnç belirlenmiştir (Herron ve Rophail, 1998). Bajda vd. (2017) *T. urticae* popülasyonlarında tebufenpyrad ve pyridaben için 30-60 kata kadar yükselen direnç seviyelerini bulduklarını bildirmişlerdir. Snoeck vd. (2019) çilekten topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında tebufenpyrad ve spiromesifen'e karşı sırasıyla 12.47 ve 5.51 kat direnç oranı tespit ettiklerini ve bu iki etken madde arasında bir çapraz direnç gelişmediğini bildirmişlerdir. Son literatürle benzer şekilde bizim çalışmamızda da tebufenpyrad ve spiromesifen arasında bir çapraz direnç belirlenmemiştir. Çalışmamızda belirlenen düşük tebufenpyrad direncinin, Burdur ili fasulye üretim alanlarında kırmızı örümcek kontrolünde tebufenpyradın da içerisinde yer aldığı METI I grubunun az kullanılması ya da akarisit rotasyonuna sokulmaması sebebiyle açıklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç

Tetranychus urticae üretim alanları içerisinde birçok etken maddeye karşı hızlı bir şekilde farklı mekanizmalarla direnç geliştirebilmektedir. Bu durum zararlının yönetimini zorlaştırmakta ve ekonomik kayıpları arttırmaktadır. Bu nedenle tarla koşullarında *T. urticae*'nin kimyasal mücadelesinde etkili bir direnç yönetim programı oluşturulmalıdır. Çalışma sonucunda Burdur ili fasulye üretim alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında yüksek spiromesifen direnci belirlenirken, buna karşılık ise tebufenpyrad direnci tespit edilememiştir. Sonuçlar göz önüne alındığında bu alanlarda iki noktalı kırmızı örümcek popülasyonlarının kontrolü için spiromesifen kullanımına ara verilmesi gerektiği ve akarisit rotasyonları içerisinde tebufenpyrad etken maddesi eklenmesinin önerilebileceği düşünülmektedir.

Yazar Katkı Oranları

Çalışmada, denemelerin kurulması ve verilerin alınması yazarlardan Orhan KAYA ve Hüseyin KAPLAN tarafından yapılmıştır. Çalışmanın planlanması, elde edilen verilerin analizi, düzenlenmesi, yazılması ve son halinin verilmesi Sibel YORULMAZ tarafından yapılmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı

Makale yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynaklar

- Abubakar, M., Umer, A., Shad, S. A., Sarwar, Z. M., & Kamran, M. (2023). Negative impact of unstable spiromesifen resistance on fitness of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Neotropical Entomology*, 52(4), 772-780.
- Adesanya, A. W., Lavine, M. D., Moural, T. W., Lavine, L. C., Zhu, F., & Walsh, D. B. (2021). Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. *Journal of Pest Science*, 94, 639-663.
- APRD, 2024. Arthropod pesticide resistance database. <https://www.pesticideresistance.org/>, 03-06-2024.
- Bajda, S., Dermauw, W., Panteleri, R., Sugimoto, N., Douris, V., Tirry, L., & Van Leeuwen, T. (2017). A mutation in the PSST homologue of complex I (NADH: ubiquinoneoxidoreductase) from *Tetranychus urticae* is associated with resistance to METI acaricides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 80, 79-90.
- Balkan, T. (2022). Abamectin, hexythiazox and spiromesifen resistance in populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae) collected from cucumber greenhouses in Tokat province. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 10(2), 2888-2891.
- Bolland, H. R., Gutierrez, J., & Flechtmann, C. H. (1998). "World Catalogue of the Spider Mite Family (Acari: Tetranychidae)", Springer, Brill.
- Demaeght, P., Dermauw, W., Tsakireli, T., Khajehali, J., Nauen, R., Tirry, L., Vontas, J., Lümmen, P., & Van Leeuwen, T. (2013). Molecular analysis of resistance to acaricidal spirocyclic tetracyclic acids in *Tetranychus urticae*: CYP392E10 metabolizes spirodiclofen, but not its corresponding enol. *Insect Biochemical Molecular Biology*, 43, 544-554.
- Grbić, M., Van Leeuwen, T., Clark, R. M., Rombauts, S., Rouzé, P., Grbić, V., & Van de Peer, Y. (2011). The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature*, 479 (7374), 487-492.
- Han, Y., Zhang, Y. C., Ye, W. N., Wang, S. M., Wang, X., & Gao, C. F. (2024). Increasing resistance of *Tetranychus urticae* to common acaricides in China and risk assessment to spiromesifen. *Crop Protection*, 176, 106519.
- Helle, W., & Sabelis, M. W. (1985). Spider Mites: Their biology, natural enemies and control, Elsevier, Amsterdam.
- Herron, G. A., & Rophail, J., (1998). Tebufenpyrad (Pyranica®) resistance detected in two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) from apples in Western Australia. *Experimental & Applied Acarology*, 22, 633-641.
- İnak, E., Demirci, B., Vandenhoele, M., Söylemezoğlu, G., Van Leeuwen, T., & Toprak, U. (2023). Molecular mechanisms of resistance to spirodiclofen and spiromesifen in *Tetranychus urticae*. *Crop Protection*, 172, 106343.
- Rauch, N., & Nauen, R. (2003). Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74(2), 91-101.
- Jonckheere, W., Dermauw, W., Zhurov, V., Wybouw, N., Van den Bulcke, J., Villarroel, C. A., Greenhalgh, R., Grbić, M., Schuurink, R. C., & Tirry, L. (2016). The salivary protein repertoire of the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*: A quest for effectors. *Molecular & Cellular Proteomics*, 15(12), 3594-3613.
- Öncüer, C., & Durmuşoğlu, E., (2008). Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın.
- Raimqulovich, A. A., & Khabibullaevich, R. A. (2022). Biological effectiveness of hamla-550 EC against spider mite (*Tetranychus urticae*) on apple orchard. *International Journal of Phytology Research*, 2(1), 36-37.
- Rauch, N., & Nauen, R. (2003). Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74, 91-101.
- Sato, M. E., Veronez, B., Stocco, R. S., Queiroz, M. C. V., & Gallego, R. (2016). Spiromesifen resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability, and monitoring. *Crop Protection*, 89 (1), 278-283.
- Singh, S. P. (1999). Integrated Genetic Improvement. In: Common Bean Improvement in The Twenty-First Century. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Snoeck, S., Kurlovs, A. H., Bajda, S., Feyereisen, R., Greenhalgh, R., Villacis-Perez, E., & Van Leeuwen, T. (2019). High-resolution QTL mapping in *Tetranychus urticae* reveals acaricide-specific responses and common target-site resistance after selection by different METI-I acaricides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 110, 19-33.
- Stumpf, N., & Nauen, R. (2001). Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 94(6), 1577-1583.

- Tomlin, C. D. S. (1997). The pesticide manual 11th. British Crop Protection Council.
- Tomlin, C. (2003). The pesticide manual, 13th ed. Crop Protection Publications, British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, United Kingdom.
- Van Leeuwen, T., & Dermauw, W. (2016). The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annual Review of Entomology*, 61(1), 475-498.
- Van Leeuwen, T., Tirry, L., Yamamoto, A., Nauen, R., & Dermauw, W. (2015). The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 12-21.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W., & Tirry, L. (2010). Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(8), 563-572.
- Yorulmaz Salman, S., & Kaplan, K. B. (2014). Isparta ili merkez ilçesinde domates seralarından toplanan *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı direnç düzeyleri ve detoksifikasyon enzimleri. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 4(3), 185-195.
- Yu, S.J. (2008). The Toxicology and Biochemistry of Insecticides. CRC Press Taylor- Francis Group.

Determination Some of Macro, Trace and Heavy Elements in Medicinal Fruits and Herb Consumed as a Functional Food in Turkey

Asuman KAN¹  Ayşegül KORKMAZ² 

¹ Konya Technical University, Vocational School of Technical Sciences, Department of Food Processing KONYA-TÜRKİYE

² Selçuk University, Agriculture Faculty, Department of Soil Science and Plant Nutrition KONYA-TÜRKİYE

Abstract

In this study was conducted to determine the macro, trace elements and some heavy metal contents growing and cultivated some edible medicinal fruits and herbs in the Eastern Black Sea Region, Turkey. The plant materials included in this study contained macro (N, P, K, Ca, Mg), trace elements (Fe, Zn, Cu, Mn, B) and heavy metals (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Se) amounts were determined by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). According to the elemental analyses, it was determined that there were statistically significant differences in mineral and heavy metal contents depending on the plant species, parts and growing conditions. This work may contribute to knowledge of the macro, trace and heavy elements contents of plants which are of some medicinal fruit and herb.

Article Info

Received: 05.09.2024

Accepted: 30.10.2024

Keywords

Heavy metal
Functional food
Macro element
Medicinal plant
Trace element

Türkiye'de Fonksiyonel Gıda Olarak Tüketilen Tıbbi Meyve ve Bitkilerde Bazı Makro, Eser ve Ağır Elementlerin Belirlenmesi

Öz

Bu çalışma Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak yetişen ve kültürü yapılan bazı tıbbi özellikli yenilebilir meyve bitkilerin makro, iz ve ağır metal içeriklerinin belirlenmesine yönelik yürütülmüştür. Bu çalışmada yer alan bitki materyallerindeki makro (N, P, K, Ca, Mg), iz (Fe, Zn, Cu, Mn, B) ve ağır metaller (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Se) İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma-Optik Emüsyon Spektroskopisi (ICP-OES) ile belirlenmiştir. Yapılan elementel analizlerine göre, bitki türü, kısımları ve yetiştirme koşullarına göre mineral ve ağır metal içeriklerinde istatistiki olarak önemli farklılıklar içerdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma bazı tıbbi meyve bitkilerinin makro, iz element ve ağır metal içeriklerinin bilinmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler

Ağır metal
Fonksiyonel gıda
İz element
Makro element
Tıbbi bitki

 Corresponding Author
akan@ktun.edu.tr

Introduction

In Turkey, approximately five hundred medicinal and aromatic plant species are consumed for different purposes depending on their chemical content. Medicinal fruits and herb are widely consumed in fresh and processed forms due to their functional food properties nowadays. The mineral composition of medicinal fruit and herbs is an important factor that influences their quality and its purpose of consumption. Ecology, production techniques and genetic characteristics can be considered among the factors affecting the mineral components of medicinal fruits and leaves.

The chemical constituents in plants including protein, carbohydrates, essential/fatty oils, vitamins, macro/microelements, heavy metals and phenolic compounds are responsible for their medicinal and nutritional properties and toxicity. The chemical contents of plants not only meet nutritional needs but also make a significant contribution to healthy living. The nutritional and health roles of minerals as well as their biochemical and pathological significance to humans and animals are well known. The minerals also play an important role in plant metabolism and biosyntheses such as enzymes and hormones. However, unwanted residues and heavy metals in consumed plants may cause the organism to become diseased. Several important macros and (N, P, K, Mg, Ca) and trace minerals (Mn, Zn, Fe, Cu and B) are important part of the plant composition (Kan, 2012). Macro and trace elements contained in plants are an important

source of functional nutrition despite they represent only 4-6% of human body weight. Some macro elements are needed by humans in more than 100 mg day⁻¹ and represent 1% of body weight, while trace elements are required in less than quantities of 100 mg day⁻¹ and represent only 0.01% of body weight (Imbrea et al., 2016).

Medicinal and aromatic plants are generally used in three forms: (i) fresh/dried leaves; (ii) dried ripe seeds (fruits), and (iii) extract (Ayran et al., 2017). A lot of space for fresh and riped seeds /fruits such as blueberry, fox grape, elderberry, and cherry laurel are consumed as functional beverages and food. In addition, fresh/dried leaves such as thyme and tarragon are used as a spice to add flavor to foods. Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) and Lemon verbena (*Lippia citriodora*) balm leaves are also widely used for medicinal tea and similar purposes.

The purpose of this study was to determine macro and trace elements, and heavy metal contents of medicinal fruit and herb samples obtained both from cultivated areas and natural sources in the eastern black sea region of Turkey.

Material and Method

Plant materials

The samples of medicinal fruit and herbs provided from the cultivation and natural flora in the Eastern Black Sea region of Turkey are given below. Among the medicinal fruits and plants, only blueberries are collected from nature and the other plants are cultivated plants. While fruits and leaves were analyzed in all other samples, these parts of the plant were analyzed since the most consumed parts of grapes are the fruit and pulp at the same time, in this research, it was aimed to compare grapefruits and their pulp with fruits to determine whether they have important content in terms of mineral components. The plant samples for elemental analyses were kept at +4°C.

Elderberry [(*Sambucus nigra*) – fruit Cultivation]; Blueberry [(*Vaccinium arctostaphylos*) – fruit and leaf (Natural flora)]; [Fox grape (*Vitis labrusca*) - pulp (Cultivation)]; Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) - fruit(Cultivation)]; [Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) – fruit (Cultivation)]; [Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) - leaf (Cultivation)]; [Tarragon (*Artemisia dracunculus*) - leaf(Cultivation)]; Lemon verbana (*Lippia citriodora*) – leaf (Cultivation)]; [Highland thyme (*Thymus nummularius*) leaf (Cultivation)].

The analyses of mineral compositions in the samples of medicinal fruit and herb

For elemental analysis, the elemental contents of fruits and herbs 0.2 g were weighed and placed into a plastic liner tube. 5 ml of HNO₃ and 2 ml of H₂O₂ were added to each tube. Once fragmented the material was transferred to a 50 ml plastic tube, and ultra-distilled water was added until a volume of 20 ml was obtained. Samples (phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), iron (Fe), zinc (Zn), Mn, copper (Cu), bor (B), aluminum (Al), arsenic (As), barium(Ba), cadmium (Cd), cobalt (Co), chromium (Cr), molybdenum (Mo), nickel (Ni), lead (Pb) and selenium (Se) were determined by ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry). The raw results were multiplied by the coefficient determined for each sample and thus the amount of elements in the sample was determined in mg kg⁻¹.

The analyses of macro, trace and heavy metal contents samples of medicinal fruit and herb

Approximately 0.2 g of the dried and ground plant samples were weighed and placed in tin containers and nitrogen contents were determined according to the Dumas Combustion Method given in (LECO/ TRUESEC MICRO) AACC Method 46-30 in a LECO C/N analyzer operating with helium, oxygen and dry air heated at 950 °C (AACC, 2000).

Statistical analysis

The statistical analyzes in the study were performed using the JMP 7 statistical program. The significance of treatment effects was tested through analysis of variance and Student's t method was used to compare mean values (Jones and Sall, 2011).

Results and Discussion

Macro elementel contents of medicinal fruit and herb

According to the data obtained in this study, statistically significant differences ($p < 0.01$) were obtained in terms of macro elements content in medicinal fruits and herbs (Table 1). Research results have shown that the highest (N) content was obtained from tarragon leaves (2.91%), followed by Anatolian sage leaves (2.66%) and lemon verbena leaves (2.12%). It is observed that the nitrogen/protein content of plants consumed as leaves is higher than that of fruits.

According to our analyses, the concentration of P ranged from 195.53 [Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit] to 553.60 mg kg⁻¹ Lemon verbena (*Lippia citriodora*) leaf]. The levels of K are 620.16 [Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit and leaf] -4156.10 mg kg⁻¹ [Lemon verbena (*Lippia citriodora*) leaf] as shown in Table 1. The level of Ca is 0.75 [Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit] -284.07 mg kg⁻¹ [Lemon verbana (*Lippia citriodora*) leaf] in our study. The levels of Mg in our study ranged from 8.59 [Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit] to 136.75 mg kg⁻¹ppm [Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) leaf].

In a study conducted on blueberries (*Vaccinium corymbosum*), the highest macro elements detected were Mg, P, Ca, Na and K (104.72 mg kg⁻¹; 156.24 mg kg⁻¹; 646.79 mg kg⁻¹; 320.32 mg kg⁻¹, respectively and 1416.78 mg kg⁻¹) (Medvecký et al., 2014). In our study, the levels of these macro elements were found to be low in blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum*) (Table 1-2). Özer and Aksoy, (2019) reported that mineral analyzes were carried out on *Trachystemon orientalis* with very high amounts of K (388.38- 579.14 mg kg⁻¹) to P (33.97 - 54.09 mg kg⁻¹), Ca (15.94 - 43.24 mg kg⁻¹), Mg (10.80 - 43, 24 mg kg⁻¹) contents were determined. These research results are lower than our research results, except for the Ca and Mg contents of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruits (Table 1).

In another study, the highest Ca, Fe, K, Mg and S levels were respectively, it has been detected in *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis* L., *Anethum graveolens* L., *Ocimum basilicum* plants (Özcan, 2004). In our study results of macro element contents of medicinal fruit and herb differences when compared to other studies. These differences may be due to growth/cultivation conditions, genetic, ecology factors, and other procedures (Kan et al., 2005).

Table 1. Macro element contents of medicinal fruit and herb.

Plant samples	N -----(%)-----	P	K ----- (mg kg ⁻¹) -----	Ca	Mg
1	0.88±0.14 G	547.65±0.26 A	2582.78±169.69 E	46.03±0.42 E	70.07±0.53 C
2	0.84±0.11 G	238.28±1.39 E	620.16±1.78 F	20.10±0.77 F	22.19±0.33 E
3	1.14±0.12 D	245.30±6.79 DE	885.25±6.10 F	6.59 G±0.10 H	14.22±0.21 F
4	1.32±0.06 E	331.10±1.36 C	778.54±14.59 F	43.67±0.10 E	20.99±0.31 E
5	0.49±0.05 H	284.54±7.28 D	3359.35±57.29 CD	19.26±1.16 FG	21.93±1.29 E
6	0.39±0.04 I	195.53±6.08 F	674.17±15.33 F	0.75±0.04 H	8.59±0.18 F
7	2.66±0.02 B	406.16±1.34 B	3135.95±10.46 D	238.07±8.98 B	136.75±0.14 A
8	2.91±0.03 A	366.24±6.20 BC	3856.94±229.57 AB	154.19±11.49 C	58.39±3.69 D
9	2.12±0.04 C	553.60±17.21 A	4156.10±100.06 A	284.07±1.37 A	120.55±2.64 B
10	1.86±0.12 D	258.07±27.20 DE	3686.38±36.00 BC	95.91±0.39 D	71.07±0.72 C
11	2.12±0.10 C	241.48±9.14 DE	620.16±4.89 F	14.30±0.57 FG	22.29±1.08 E

A,B; $p < 0.01$, **ab;** $p < 0.05$.

1: Elderberry (*Sambucus nigra*) fruit; 2: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit; 3: Fox grape (*Vitis labrusca*) fruit; 4: Fox grape (*Vitis labrusca*) pulp; 5: Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) fruit; 6: Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit; 7: Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) leaf; 8: Tarragon (*Artemisia dracuncululus*) leaf; 9: Lemon verbena (*Lippia citriodora*) leaf; 10: Highland thyme (*Thymus nummularius*) leaf; 11: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) leaf.

Wild-collected fruits of the *Vaccinium arctostaphylos* species and when the fruits of the cultivated *Vaccinium corymbosum* species were compared in terms of macro element content; *Vaccinium arctostaphylos* fruit collected from nature had higher N (0.84%), Ca and Mg content; It was observed that P and K contents were close to each other (Table 1). On the other hand, when we compare fox fruit (*Vitis labrusca*) and its pulp in terms of macro element content, as seen in Table 1, the N, P, K and Mg contents are close to each other, and the Ca content is higher in the pulp.

Trace elementel contents of medicinal fruit and herb

In this study; the level of Fe ranged from between 0.001 [Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit] - 5.65 mg kg⁻¹ppm[Lemon verbana (*Lippia citriodora*) leaf]. From other trace elements, Zn concentrations were 0.90 mg kg⁻¹ [tarragon (*Artemisia dracunculus*) leaf] -2.85 mg kg⁻¹ [fox grape (*Vitis labrusca*) pulp]. According to our analysis, the highest copper (cu) level was obtained from highland thyme (*Thymus nummularius*) leaf (5.62 mg kg⁻¹) while the lowest was obtained from blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit (0.73 mg kg⁻¹). Mn level ranged from between 0.001 mg kg⁻¹ [fox grape (*Vitis labrusca*) pulp] -5.19 mg kg⁻¹ [blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) leaf]. As seen in Table 2, the highest boron (B) level was obtained from cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) fruit (5.63 mg kg⁻¹), while the lowest was obtained from blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit (0.74 mg kg⁻¹).

The highest content of trace elements (Fe 156.60 mg kg⁻¹, Mn 8.68 mg kg⁻¹, Zn 1.081 mg kg⁻¹, Cu 0.507 mg kg⁻¹) was detected from Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit (Medvecký et al., 2014).

Table 2. The trace element contents of medicinal fruit and herb.

Plant samples	Fe	Zn	Cu	Mn	B
	(mg kg ⁻¹)				
1	0.82±0.003 D	1.55±0.005 F	1.01±0.05 E	0.80±0.012 D	3.15±0.014 D
2	0.001±0.001 E	1.62±0.003 F	2.13±0.04 D	4.61±0.283 AB	1.62±0.01 F
3	0.93±0.008 D	2.55±0.151 B	1.13±0.01 E	0.85±0.051 D	3.01±0.02 D
4	0.95±0.013 D	2.85±0.039 A	2.51±0.03 D	0.001±0.001 E	1.95±0.03 E
5	0.79±0.002 D	1.85±0.001 DE	1.21±0.09 E	0.84±0.043 D	5.63±0.04 A
6	0.74±0.001 DE	2.24±0.001 C	0.73±0.01 E	0.75±0.003 D	0.74±0.01 G
7	3.63±0.064 C	0.93±0.003 G	3.32±0.11 C	0.89±0.028 D	3.53±0.11 C
8	4.55±0.586 B	0.90±0.008 G	4.91±0.36 B	2.10±0.065 C	5.27±0.07 B
9	5.65± 0.091A	1.87±0.036 DE	5.43±0.12 AB	1.83±0.077 C	3.68±0.11 C
10	4.59±0.176 B	1.95±0.003 D	5.62±0.21 A	4.49±0.194 B	1.75±0.12 EF
11	0.81±0.003 D	1.67±0.070 EF	3.06±0.01 C	5.19±0.268 A	1.59±0.01 F

A,B; p<0.01, **ab;** p<0.05.

1: Elderberry (*Sambucus nigra*) fruit; 2: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit; 3: Fox grape (*Vitis labrusca*) fruit; 4: Fox grape (*Vitis labrusca*) pulp; 5: Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) fruit; 6: Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit; 7: Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) leaf; 8: Tarragon (*Artemisia dracunculus*) leaf; 9: Lemon verbana (*Lippia citriodora*) leaf; 10: Highland thyme (*Thymus nummularius*) leaf; 11: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) leaf.

Trace element and heavy metal contents (Cu, Zn, Mn, Fe, Cr, Ni and Cd) detected in the fruit of the elderberry plant cultivated in the Eastern Black Sea region were found to be quite low compared to other studies (Ognik et al., 2006; Koodziej et al., 2012). Sanches et al. (2021) found lower Fe (0.157 mg kg⁻¹), Cu (0.037mg kg⁻¹) and Zn (0.025mg kg⁻¹) in their study on black Borgoña (*Vitis labrusca* L.) grapes, contrary to our results another study, macro elements K (107.4 mg kg⁻¹), Ca (344.1 mg kg⁻¹) and Na (18.9 mg kg⁻¹) and microelements (Fe, Zn and Cu) were found in the very low content of *Artemisia vulgaris* L. It has been reported that the Cr content is especially high (Bhat et al., 2010). In our study on tarragon (*Artemisia dracunculus*) leaves, it was determined that the heavy metal contents were lower, and the macro and trace element contents were higher. The reasons for these differences in literature are diversity, geographical location, climate, and seasonal effects, which can be attributed to soil composition.

In the research conducted by Pruteanu et al. (2019) the highest zinc (Zn) content was detected in plum (8.19 -12.5 mg kg⁻¹) and sour cherry fruits (19.0 mg kg⁻¹), while the lowest lead content was determined in plum and sour cherry fruits. In our study, the highest Zn content (2.85mg kg⁻¹) was detected in fox grape (*Vitis*

labrusca) pulp (Table 2). The investigation for the difference in Zn content between the studies and our research include contaminated soils, environmental pollution, pesticide residues, etc. can be shown.

Metals are elements that are necessary for biochemical and physiological functions in maintaining the health of living things. Excess or deficiency of trace elements can have harmful effects on the human body. Depending on growing techniques and plant species, fruits may contain and accumulate heavy metals. In a study, it was determined that the most assimilated element in plum fruits was zinc, followed by copper and a very small amount of lead (Figas et al., 2024). Similarly, in our study, the highest trace element zinc was detected in Fox grape (*Vitis labrusca*) pulp.

Heavy metals contents of medicinal fruit and herb

In this research, toxic heavy metals aluminum (Al), arsenic (As), barium (Ba), cadmium (Cd), cobalt (Co), chromium (Cr), molybdenum (Mo), nickel (Ni), lead (Pb) and selenium (Se) were examined in materials from different plants. According to our analyses, the highest level of Al was found to be (0.55 mg kg⁻¹) from Lemon verbena leaves, As (26.19 mg kg⁻¹) from Anatolian sage leaves Ba (4.56 mg.kg⁻¹ppm) Lemon verbena leaves and Cd (0.06 mg kg⁻¹; 0.07 mg kg⁻¹; 0.6 mg kg⁻¹) fox grape pulp, cherry laurel fruit, blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit respectively.

Among other heavy metals, the highest amount of Cr was determined in elderberry fruit (0.10 mg.kg⁻¹), Mo in fox grape pulp (0.22 mg.kg⁻¹), Ni and lead Pb in Lemon verbena leaves (respectively 0.35 mg.kg⁻¹ and 1.47 mg.kg⁻¹) and Se in blueberry fruits (1.64 mg kg⁻¹) (Table 4).

When Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit and Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit were compared, it was determined that Cd, one of the heavy metals, was higher in the cultivated *Vaccinium corymbosum* species (Table 3).

Table 3. The heavy metal contents of medicinal fruit and herb.

Plant samples	Al	As	Ba	Cd	Co
	(mg kg ⁻¹)				
1	0.47±0.004 BC	17.53±0.06 C	0.39±0.001 CDE	0.06±0.008 a	0.10±0.0001
2	0.45±0.026 CD	20.36±0.07 B	0.48±0.004 CD	0.003±0.001 d	0.08±0.011
3	0.44±0.007 CDE	19.30±0.60 B	0.20±0.024 EFG	0.01±0.001 cd	0.07±0.0002
4	0.45±0.019 CD	3.58±0.03 F	0.28±0.019 D-G	0.06±0.023 a	0.24±0.1806
5	0.43±0.006 C-F	7.48±0.09 E	0.13±0.016 FG	0.07±0.005 a	0.15±0.0064
6	0.39±0.001 DEF	9.92±0.17 D	0.08±0.004 G	0.06±0.012 a	0.07±0.0176
7	0.53±0.016 AB	26.19±0.89 A	1.85±0.008 B	0.04±0.012 abc	0.21±0.0031
8	0.41±0.019 C-F	9.50±0.49 D	0.56±0.042 C	0.02±0.005 bcd	0.15±0.0182
9	0.55±0.014 A	16.76±0.42 C	4.56±0.140 A	0.03±0.005 bcd	0.18±0.0001
10	0.36±0.018 F	1.57±0.17 G	4.49±0.105 a	0.02±0.015 bcd	0.06±0.0006
11	0.37±0.024 EF	4.48±0.18 F	0.34±0.003 C-F	0.05±0.010 ab	0.09±0.0003

A,B; p<0.01, ab; p<0.05.

1: Elderberry (*Sambucus nigra*) fruit; 2: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit; 3: Fox grape (*Vitis labrusca*) fruit; 4: Fox grape (*Vitis labrusca*) pulp; 5: Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) fruit; 6: Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit; 7: Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) leaf; 8: Tarragon (*Artemisia dracuncululus*) leaf; 9: Lemon verbena (*Lippia citriodora*) leaf; 10: Highland thyme (*Thymus nummularius*) leaf; 11: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) leaf.

On the other hand in our research, when foxberry (*Vitis labrusca*) fruit and foxberry (*Vitis labrusca*) pulp were compared in terms of heavy metal content; Foxberry (*Vitis labrusca*) pulp contained higher Mo (0.22 mg kg⁻¹) and Cd (0.06 mg kg⁻¹) content.

The limit values in the aerial parts of *S. Virgata* for Cd, Cr, and Ni determined by the WHO/FDA are 0.3 - 0.02 and 1.63 mg kg⁻¹, respectively (Lone et al., 2003). In our study, Cd and Ni, (*Salvia fruticosa*) among the heavy metals detected, were below the limit values, while Cr value was above the limit value. This study shows that whether medicinal plants are collected from nature or cultivated, they can be contaminated with heavy metals through pre-harvest and post-harvest cultural processes such as irrigation, fertilization and pesticides.

Heavy metals that may contribute to biochemical processes, but which have not been essential are Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb and Se are known for their toxicological properties. Heavy metals were in no or low quantities suggesting their safe use as required.

Medicinal plants can also accumulate trace metals in their tissues, and the increase in the concentrations of these elements reduces the bioavailability of plant material. High concentration of heavy metals in plant tissues can adversely affect human health (Ognik et al., 2006).

Table 4. The heavy metal contents of medicinal fruit and herb.

Plant samples	Cr	Mo	Ni	Pb	Se
(mg kg ⁻¹)					
1	0.10±0.001 A	0.18±0.005 A-D	0.16±0.012 BC	0.55±0.011 F	0.63±0.016 E
2	0.08±0.005 B	0.16±0.002 CDE	0.09±0.003 EF	0.61±1.54 EF	1.64±0.004 A
3	0.01±0.003 E	0.21±0.005 AB	0.20±0.014 B	0.83±0.04 D	1.62±0.003 AB
4	0.06±0.001 BC	0.22±0.025 A	0.17±0.001 BC	1.06±0.02 C	1.36±0.006 CD
5	0.05±0.007 CD	0.17±0.008 B-E	0.06±0.014 FG	0.98±0.03 C	1.22±0.078 D
6	0.08±0.001 B	0.19±0.016 ABC	0.18±0.002 BC	0.73±0.02 DE	1.33±0.058 CD
7	0.02±0.001 E	0.06±0.002 G	0.03±0.007 G	1.35±0.05 AB	0.41±0.002 F
8	0.04±0.008 D	0.11±0.014 F	0.06±0.002 FG	1.28±0.01 B	0.51±0.093 EF
9	0.08±0.008 B	0.13±0.001 EF	0.35±0.013 A	1.47±0.09 A	0.21±0.015 D
10	0.04±0.0013 D	0.14±0.005 DEF	0.14±0.010 CD	0.57±0.01 F	0.55±0.001 EF
11	0.07±0.0076 BC	0.10±0.009 FG	0.11±0.025 DE	0.61±0.04 EF	1.46±0.027 BC

A,B; p<0.01, **ab;** p<0.05.

1: Elderberry (*Sambucus nigra*) fruit; 2: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) fruit; 3: Fox grape (*Vitis labrusca*) fruit; 4: Fox grape (*Vitis labrusca*) pulp; 5: Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) fruit; 6: Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit; 7: Anatolian sage (*Salvia fruticosa*) leaf; 8: Tarragon (*Artemisia dracunculus*) leaf; 9: Lemon verbana (*Lippia citriodora*) leaf; 10: Highland thyme (*Thymus nummularius*) leaf; 11: Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos*) leaf.

Conclusion

In conclusion, these results have shown that the macro, trace element and heavy metal contents of some medicinal fruits and herbs used as functional food for medicinal purposes may be differences significantly depending on the species of plant, the part of the plant consumed and the ecological conditions in which it grows naturally or is cultivated.

Forming the raw material of herbal medicines and food supplements mineral content and heavy metal concentrations of medicinal plants are extremely important for human health. In this study, determining the mineral and heavy metal contents of some edible fruits and plants with medicinal properties is important in guiding future studies to evaluate the quality of herbal products.

Author Contributions

Authors participated in this study arranging and development. A. Korkmaz contributed to this work lab processing of samples, data analysis. A. Kan data interpretation, article writing, and discussion. The authors approved the final manuscript.

Conflict of Interest

A. Korkmaz and A. Kan declare that they have no competing interests.

Ethics Committee Approval

As the authors of this study, we declare that we have no ethics committee approval.

References

- AACC, I. (2000). Approved Methods of the AACC, Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- Ayran, İ., Çelik, S.A., & Kan, A. (2017). The elemental characterization of coriander populations (*Coriandrum sativum* L.) cultivated in Turkey. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(2):110-114.

- Bhat, R., Kiran, K., Arun, A.B., & Karim, A. A. (2010). Determination of mineral composition and heavy metal content of some nutraceutically valued plant products. *Food Analytical Methods*, 3: 181–187
- Figas, A., Kobiński, M., Siwik-Ziomek, A., Tomaszewska-Sowa, M., & Gruszkaz. (2024). Anthropression as a factor affecting the content of heavy metals in the flowers of *Sambucus nigra* L.— A medicinal plant affecting human health. *Sustainability*, 16, 4641.
- Imbrea, I.M., Radulov, I., Alma L. Nicolin, A.L., & Imbrea, F. (2016). Analysis of macro elements content of some medicinal and aromatic plants using flame atomic absorption spectrometry (FAAS). *Romanian Biotechnological Letters*, 21(4): 1642-1649.
- Jones, B., & Sall, J. (2011). JMP statistical discovery software. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 3(3): 188-194.
- Kan, A. (2012). Chemical and elemental characterization of wheat germ oil (*Triticum* spp. L.) cultivated in Turkey. *African Journal of Agricultural Research*, 7(35): 4979-4982.
- Kan, Y., Kan, A., Ceyhan, T., Sayar, E., Kartal, M., Altun, L., Aslan, S., & Cevheroğlu, Ş., (2005). “Atomic absorption spectrometric analysis of *Trigonella foenum - graecum* L. seeds cultivated in Turkey“, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(3): 87-191.
- Koodziej, B., Maksymiec, N., Drojda, K., & Antonkiewicz, J. (2012). Effect of traffic pollution on chemical composition of raw elderberry (*Sambucus nigra* L.), *Journal of Elementology*, 17(1): 67-78.
- Lone, M., Saleem, S., Mahmood, T., Saifullah, K., & Hussain G. (2003). Heavy metal contents of vegetables irrigated by sewage / tubewell water. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5: 533-535.
- Medvecký, M. Daniel, J., Vollmannová, A., & Zupka, S. (2014). Impact of conventional and organic fertilizer application on the content of macro and micro elements in the fruit of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.), *The Journal of Microbiol Biotech Food Sciences*, 3: 259-262.
- Ognik, K., Rusinek, E., Sembratowicz, I., & Truchliński, J. (2006). Contents of heavy metals, nitrate (V), and nitrate (III) in fruits of elderberry and black chokeberry depending on harvest site and vegetation period. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 57(3): 235-241.
- Özcan, M. (2004). Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chemistry*, 84: 437–440.
- Özer, M.Ö., & Aksoy, M. (2019). Mineral composition and nutritional properties of *Trachystemon orientalis* (L.) G. don populations in the central black sea region of Turkey, *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 18(4), 157–167.
- Pruteanu, A., Găgeanu G., Neagoe M., Popescu C., & Vrînceanu N. (2019) Content of heavy metals in plum and sour cherrie fruits. International Symposium.
- Sanches, B.M., Hiparraguirre, H. C., & Hartshorn, M.R. (2021). Chemical composition and mineral content of black boroña (*Vitis labrusca* L.) grapes, pomace and seeds, and effects of conventional and non-conventional extraction methods on their antioxidant properties, *Food Science and Technology* DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.120021>.

TR 71 Bölgesinin Patates Üretiminde Yakıt Kaynaklı Karbondioksit Emisyonu ve Projeksiyon Tahmini

Ebubekir ALTUNTAŞ¹ 

¹ Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü, 04694, TOKAT-TÜRKİYE

Öz

Bu çalışmada, Kırıkkale, Aksaray, Niğde, Nevşehir ve Kırşehir illerini kapsayan TR71 Bölgesinin 2014-2023 yılları arasındaki patates üretimindeki yakıt tüketimine dayalı karbondioksit emisyonu belirlenmiş ve gelecek 10 yıla ait projeksiyon tahmini yapılmıştır. 2014-2023 yılları arasındaki TR71 Bölgesinin patates üretimine ait yakıt kaynaklı olarak ortalama CO₂ emisyonu 3.650 ktCO₂, özgül yakıt tüketimi 0.841 g_{yakıt} kg_{ürün}⁻¹ ve özgül CO₂ emisyonu değeri ise 2.877 gCO₂ kg_{ürün}⁻¹ olarak bulunmuştur. TR71 Bölgesinde patates üretimi için gelecek 10 yıl (2024-2033) için hesaplanan projeksiyon tahminleri incelendiğinde, toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyon değerlerinin her birinin artma eğiliminde olacağı görülmektedir.

Article Info

Received: 29.09.2024

Accepted: 26.11.2024

Anahtar Kelimeler

CO₂ emisyonu
Patates
Projeksiyon
Yakıt tüketimi

Carbon Dioxide Emissions Based on Fuel in Potato Production in TR 71 Region and Projection Estimate

Abstract

In this study, the carbon dioxide emission based on fuel consumption in potato production of TR71 Region covering Kırıkkale, Aksaray, Niğde, Nevşehir and Kırşehir provinces between 2014-2023 was determined and a projection estimate for the next 10 years was made. The average CO₂ emission from potato production in TR71 Region between 2014-2023 was found to be 3.650 ktCO₂, the specific fuel consumption was found to be 0.841 g_{fuel} kg_{product}⁻¹ and the specific CO₂ emission value was found to be 2.877 gCO₂ kg_{product}⁻¹. When the projection estimates calculated for the next 10 years (2024-2033) for potato production in TR71 Region are examined, it is seen that total CO₂ emission, specific fuel consumption and specific CO₂ emission values will each have an increasing trend.

Keywords

CO₂ emission
Fuel consumption
Potato
Projection



Corresponding Author
ebubekir.altuntas@gop.edu.tr

Giriş

Küresel ısınma ve iklim değişikliği, canlı hayatını tehdit etmekte, atmosferde sera gazlarının zamanla birikimi küresel ısınmayı meydana gelmektedir (Tokay, 2018). Sanayi devrimi sonucu oluşan yoğun üretim ve yoğun tüketimler için gereksinilen enerjinin temininde yenilenemeyen fosil kaynaklı yakıtların kullanımının artması sonucu atmosfere salınan CO₂, CH₄ ve N₂O vb. sera gazlarının önemli oranda artışı küresel ısınmanın ve iklimsel değişiklik problemlerinin oluşumuna neden olmuştur (Massey vd., 2019). Uluslararası İklim Değişikliği Paneli raporuna göre; iklim değişikliğine %95 oranında insan kaynaklı etkenlerin neden olduğu ve bu açıdan iklim değişikliğinin olumsuz etkilerini önlemek için, sera gazları emisyonlarının azaltılması gerektiği vurgulanmıştır (IPCC, 2014).

Tarım sektörü bir yandan iklimsel değişikliğe neden olurken, bir yandan da iklimsel değişikliklerden önemli düzeyde etkilenmektedir (Vatansever ve Çelik, 2017). Verimlilik esaslı büyüyen endüstriyel tarım ve gıda üretim sistemi; çevresel, sağlık yönünden ve ekonomik açıdan da birçok soruna neden olmaktadır. Tarımsal üretimde enerji tüketimine bağlı olarak verimlilik ve kârlılık birlikte değerlendirilmektedir. Tarımdaki teknoloji kullanımının hızlı değişimi ve gelişimiyle daha fazla kârlılık hedeflenmekte, buna karşın güç kaynağı traktörler ve tarım makinelerinin yakıt ve motor yağı tüketimi kaynaklı olarak egzoz emisyonları oldukça yüksektir (Küsek, 2018). Tarımsal üretimdeki faaliyetler içerisinde, toprak işleme, ekim-dikim-bakım çalışmaları, sulama, ilaçlama, hasat işlemleriyle beraber hasat sonrası ürünün depolanmasına kadar meydana gelen sera gazı emisyonları, iklim değişikliğini tetiklemektedir (Lal, 2004). Bu amaçla yapılan ve

yapılması planlanan çalışmalar ile il, bölge ve Türkiye ölçeğinde IPCC yöntemlerine uyumlu olarak emisyon hesaplamalarının ve geleceğe yönelik de tahminlerin doğru bir şekilde yapılması çok önemlidir.

Sürdürülebilir tarım için kullanılan enerjinin tüm üretim periyotlarında daha etkin kullanılabilmesi gerekir, aynı zamanda fosil kaynaklı yakıt tüketimini azaltmak, sera gazları emisyonlarının azaltılmak ve daha etkin tarımsal üretim sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Öztürk, 2017). Tarımsal üretimde enerji kullanım etkinliğini artırabilmek için üretim için gerekli olan traktör ve tarım makinelerinin tükettiği yakıt-yağ ile kimyasal ilaç ve gübre girdilerinin de azaltılması gereklidir (Gözübüyük vd., 2012). Öztürk ve Vulkan (2017), sera gazları emisyonlarının azaltılması için, tarımsal üretimde kullanılan yakıt ve motor yağının enerji kaynağı olması nedeniyle, traktör ile tarım makinelerinin güç dengesi uyumunun sağlanması ve motorun aşırı yükte kullanılmaması gerekliliğini vurgulamışlardır. Bu nedenle sera gazları emisyonlarının artışının kontrol altında tutulabilmesi ve asgariye indirilmesine yönelik birçok il, bölge ve ülkesel bazda çalışmalar yürütülmekte ise de bu çalışmaların artırılması gereklidir (Gołasa vd., 2021). Bu yöndeki yapılacak emisyon belirleme çalışmalarının il, bölge ve ülke geneli için IPCC yöntemlerine uyumlu olarak yapılması ve geleceğe yönelik de tahminlerinin doğru bir şekilde yapılması gerekmektedir.

Tarımsal üretimde iklim değişikliğinin etkisiyle yağış rejimindeki değişimler, sıcaklıklardaki artışlar, kuraklıklar, çölleşme ve doğal afetlerin oluşturacağı olumsuz etkiler; tarım sektörünü, ekosistemi ve ekonomiyi birlikte önemli düzeyde tehdit etmektedir (Hayaloğlu, 2018). Küresel ısınma ve iklim değişikliği, Türkiye ve diğer dünya ülkeleri için en önemli sorunlardan birisidir. Bugün iklimsel değişikliklerin etkileri her geçen gün artmakta, bu etkiler ülkesel, bölgesel ve yerel baz da farklı şekillerde görülebilmektedir. Bunun için sera gazları emisyonlarını azaltmak için tüm ülkelerin üst düzey yatırımlar yapması zorunludur (Aydın, 2023). Türkiye, iklim değişikliğinin etkilerine en fazla maruz kalan ülkelerden birisidir. IPCC (2013) raporuna göre, Türkiye'nin gelecek yıllarda da daha kurak, daha sıcak ve aynı zamanda yağışlar açısından daha belirsiz bir iklim yapısına sahip olacağı ifade edilmiştir. Türkiye'nin tarımsal ekosistemiyle iklim değişikliğinden önemli oranda etkilenmesi nedeniyle, bu değişikliğin sebeplerini ortadan kaldırmadan sürdürülebilir bir kalkınma sağlayamayacağı açıklanmaktadır (Smagulova vd., 2017; Aydın ve Aktuz, 2023).

Ağaçayak ve Öztürk (2017), İklim Değişikliği Çerçeve Sözleşmesi kapsamında Türkiye tarafından 2017 yılında sunulan ulusal envanter raporuna göre, 2015 yılı için toplam sera gazı emisyonu 475 MtCO₂ eşdeğeri olup, toplam emisyonun 340 MtCO₂ eşdeğeri olan %72'sinin enerjiden, 61 MtCO₂ eşdeğeri olan %13'ünün endüstriyel proseslerden, 57 MtCO₂ eşdeğeri olan %12'sinin tarımdan, 17 MtCO₂ eşdeğeri olan %3'ünün atıktan kaynaklandığını açıklamaktadırlar. TÜİK 2020 yılı sera gazları envanter sonuçlarına göre, Türkiye'de toplam sera gazları emisyonunun 523.9 MtCO₂ eşdeğeri olduğu, tarım sektöründeki sera gazları emisyonlarının 2020 yılında, 73.2 Mt CO₂ eşdeğeri olarak hesaplandığı açıklanmıştır (TÜİK, 2020).

Sera gazları emisyonlarının belirlenmesine yönelik olarak bugüne kadar bir çok il, bölge ve ülke ölçeğinde farklı ürünler için yapılan çalışmalar incelendiğinde, Doğu Akdeniz Bölgesinde zeytin (Bilgili vd., 2018), Doğu Akdeniz Bölgesinde buğday ve mısır (Kuzu vd., 2024), Güneydoğu Anadolu Bölgesinde mercimek (Küsek, 2018), Türkiye ölçeğinde buğday ve mısır (Öztürk ve Vulkan, 2017), Türkiye ölçeğinde pamuk (Öztürk vd., 2017), Türkiye'de farklı ürünlerin (arpa, nohut, mısır, pamuk, mercimek, acı bakla, pirinç, şeker pancarı, ayçiçeği, fiğ ve buğday) Eren vd., (2019) üretimlerinde sera gazları emisyonuna ait çalışmalar yapılmıştır.

TR71 Bölgesi Kırıkkale, Aksaray, Niğde, Nevşehir ve Kırşehir illerini kapsamakta, 31.823 km²'lik bir yüzey alanına sahip olup, Türkiye'nin yüzölçümünün %4.1'ini kaplamaktadır. TR71 Bölgesinin nüfusu 1.611.789 ile Türkiye'nin %2'lik nüfusunu oluşturan Düzey 2 Bölgesi'dir. Bölge içerisinde nüfus dağılımı incelendiğinde, en yoğun nüfus oranına sahip iller Aksaray ve Niğde'dir. En düşük nüfus yoğunluğu ise Kırşehir ilidir (Anonim, 2024).

Patates, karbonhidrat, mineral madde ve vitamin bakımından zengin potansiyele sahiptir. Patates, buğday, mısır, çeltikten sonra 4. sırada önemli bitkisel kaynaktır. Tek yıllık bir kültür bitkisi olan patates, çeşitli iklim bölgelerine kolaylıkla uyum sağlayabildiği için, Dünyanın her yerinde geniş üretim alanlarında üretilen patates, değişik formlarda kullanılmakta ve çok yoğun şekilde tüketilmektedir. Türkiye'de patates

150 927 ha dikim alanından 5 700 000 ton üretim yapılmakta olup, verim ortalaması 37.77 kg ha⁻¹'dir (TÜİK, 2024).

Altuntaş ve Asiltürk (2011) yaptıkları çalışmada sonbahar ve ilkbaharda uygulanan farklı toprak işleme sistemlerinin patates verimi ve toprak özelliklerine etkilerini karşılaştırmışlardır. Yörede patates üretiminde verimi artırırken girdileri azaltarak sürdürülebilirliğin sağlanması için enerji etkinliğinin de analiz edilmesinin gerekli olduğunu vurgulamışlardır. Mohammadi vd. (2008), patates üretiminde toplam enerji girdisi içerisinde en yüksek paya %40.17 ile gübre enerjisinin ve bunu yakıt enerjisinin (%15.8) takip ettiğini; Hamedani vd. (2011), patates üretiminde en yüksek enerji girdilerinin gübre (%46.4) ve yakıt enerjisi (%21) girdisinin olduğunu, Bakhtiari vd., (2015) ise patates üretiminde toplam enerjisi girdisi içerisinde en büyük payın %35.17 ile elektrik enerjisi girdisinde olduğunu ve bunu kimyasal gübre enerjisi (%26.83), yakıt enerjisi (%18.71)'sinin izlediğini belirtmişlerdir.

Özgöz vd., (2017) patates üretiminde toplam enerji girdisi içerisinde en yüksek payın kimyasal gübre enerjisinin olduğu, bunu tohum ve yakıt+yağ enerjisi girdilerinin takip ettiğini açıklamaktadır. Çevre koruma ve sürdürülebilirlik açısından kimyasal gübre ve yakıt enerjisinin azaltılması için etkin gübre kullanımının ve parsel büyüklüklerine bağlı olarak traktör - makine eşleşmesinin doğru yapılmasının önemli olduğunu açıklamışlardır. Bu çalışmada ise, TR71 Bölgesindeki çok yoğun üretilen patates üretiminde yakıt kaynaklı karbondioksit emisyon değerleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

TR71 Bölgesi 3.190.900 ha yüzölçümüne sahip olup, Türkiye yüzölçümünün %4.07'sini kapsamaktadır. Bölgenin en büyük yüzölçümüne sahip ili 762.600 ha ile Aksaray, bunu 736.500 ha ile Niğde ve 657.000 ha ile Kırşehir takip etmektedir (Anonim, 2013).

TR71 Bölgesinde 2023 yılı verilerine göre patates dikim alanı toplamı 305 767 da olup, bölgenin en yoğun patates üretim alanı %63.71 oranında Niğde ilinde yer alırken, Nevşehir ise %27.47 oranına sahiptir. Üretim miktarı açısından en yoğun üretim %51.18 oranıyla Niğde ilinde iken, Nevşehir ve Aksaray illeri sırasıyla %21.53 ve %21.18 oranında bir orana sahiptir. Bölgenin verim ortalaması ise 34.00 kg ha⁻¹ olarak belirlenmiştir (Anonim, 2024).

TR71 Bölgesi için 2014-2023 yılları arasında ana ürün patates üretiminde dikim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) tarım istatistiklerinden alınmış (TÜİK, 2024), Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. TR71 Bölgesindeki patates dikim alanı, üretilen ürün miktarı ve verim değerleri (TÜİK, 2024).

Yıllar	Dikim alanı (ha)	Üretim miktarı (ton)	Verim (ton ha ⁻¹)
2014	23098	1084221	30.47
2015	29850	1222617	29.45
2016	29771	1362168	31.79
2017	29734	1297952	32.80
2018	26610	1207254	33.42
2019	25726	1285762	35.94
2020	25967	1251220	35.73
2021	22432	1207300	38.13
2022	25996	1292818	36.10
2023	30577	1480073	36.13
Ort.	26976	1269139	34.00

Tablo 1'e göre, 2014-2023 yılları arasında patates dikim alanlarda %32.38 ve üretim miktarlarında %36.51 ve verim değerlerinde %18.60'lık bir artış kaydedilmiştir.

TR71 Bölgesinde patates üretimi için yakıt tüketim değerleri için Özgöz vd., (2017)'inin açıkladığı değerler dikkate alınmış ve patates için birim alanda tüketilen yakıt değerleri sırasıyla 47.11 l ha⁻¹ olarak

karbondioksit emisyon hesaplamalarında kullanılmıştır. TR71 Bölgesinde patates üretimi için yağ tüketimi değerleri ise toplam yakıt tüketiminin %4.5'i (Özcan, 1985; Alpkent, 1984) olacak şekilde dikkate alınmış ve patates üretimi için tüketilen toplam yağ miktarı ise sırasıyla %2.12 l ha⁻¹ olarak belirlenmiştir (Özgöz vd., 2017). TR71 Bölgesi için patates üretiminde kullanılan yakıt ve yağın ısı değerleri ile CO₂ emisyon faktörleri, Tablo 2'te verilmiştir (Öztürk vd., 2017; Bilgili ve Aybek, 2018; Küsek, 2018).

Tablo 2. TR71 Bölgesindeki patates üretiminde tüketilen dizel yakıt ve kullanılan motor yağının ısı değerleri ve CO₂ emisyon faktörleri

Yakıt	Yakıt alt ısı değeri (GJ l ⁻¹)	CO ₂ emisyon faktörü (kg _{CO2} GJ ⁻¹)
Dizel	0.0371	74.01
Motor yağı	0.0382	73.28

TR71 Bölgesinde patates üretimi için fosil (yakıt ve yağ) kaynaklı oluşan CO₂ emisyonlarını hesaplarken, Hükümetler arası İklim Değişikliği Paneli (IPCC, 1996)'inde açıklanan yakıt ve yağ kaynaklı toplam CO₂ emisyonu hesaplamaları göz önüne alınmıştır (Öztürk vd., 2017; Bilgili ve Aybek, 2018; Küsek, 2018). Fosil kaynaklı yakıt ve yağ tüketimine dayalı CO₂ emisyonlarının hesaplanmasında kullanılan eşitlikler Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Fosil (yakıt ve yağ) kaynaklı meydana gelen CO₂ emisyonlarının tespitine ait yapılan hesaplamalarda kullanılan eşitlikler (IPCC, 1996).

ToCO= YkCO + YaCO
[(Toplam CO ₂ emisyonu= Yakıtı dayalı CO ₂ emisyonu + Yağ kullanımına ait CO ₂ emisyonu)]
YkCE= ToD x Ykl x YEF
[(Yakıtı dayalı CO ₂ emisyonları (kg _{CO2}) = Toplam tüketilen dizel miktarı (l) x Yakıt alt ısı değeri (0.0371 GJ l ⁻¹) x Yakıt emisyon faktörü (74.01 kg _{CO2} GJ ⁻¹)]
YaCO= ToY x Yal x YaEF
[Yağ kullanımına dayalı CO ₂ emisyonları (kg _{CO2}) = Toplam tüketilen yağ miktarı (l) x Yağ alt ısı değeri (0.0382 GJ l ⁻¹) x Yağ emisyon faktörü (73.28 kg _{CO2} GJ ⁻¹)]

TR71 Bölgesi için patates üretimine yönelik olarak ürün bazlı yakıt tüketimi ve ürün bazlı CO₂ emisyonunun belirlenmesinde; özgül yakıt tüketimi (üretilen ürün miktarına düşen yakıt tüketimi) ve özgül CO₂ emisyonu (üretilen ürün miktarına düşen CO₂ emisyonu oluşumu) için aşağıdaki eşitlikler kullanılmıştır (Öztürk vd., 2017; Bilgili ve Aybek, 2018; Küsek, 2018). Toplam tüketilen yakıt miktarı gram birimine çevirirken dizel yakıtın yoğunluk değeri 0.84 g cm⁻³ dikkate alınmıştır (Beşergil, 2009).

$$\text{ÖYT} = \frac{TuY}{\text{ÜrM}} \quad (1)$$

Burada;

ÖYT : Özgül yakıt tüketimi (g_{yakıt} kg_{ürün}⁻¹),

TuY : Tüketilen yakıt miktarı (g_{yakıt}) ve

ÜrM : Üretilen ürün miktarıdır (kg_{ürün}).

$$\text{ÖCEM} = \frac{ToC}{\text{ÜrM}} \quad (2)$$

Burada;

ÖCEM : Özgül CO₂ emisyonu (gCO₂ kg_{ürün}⁻¹),

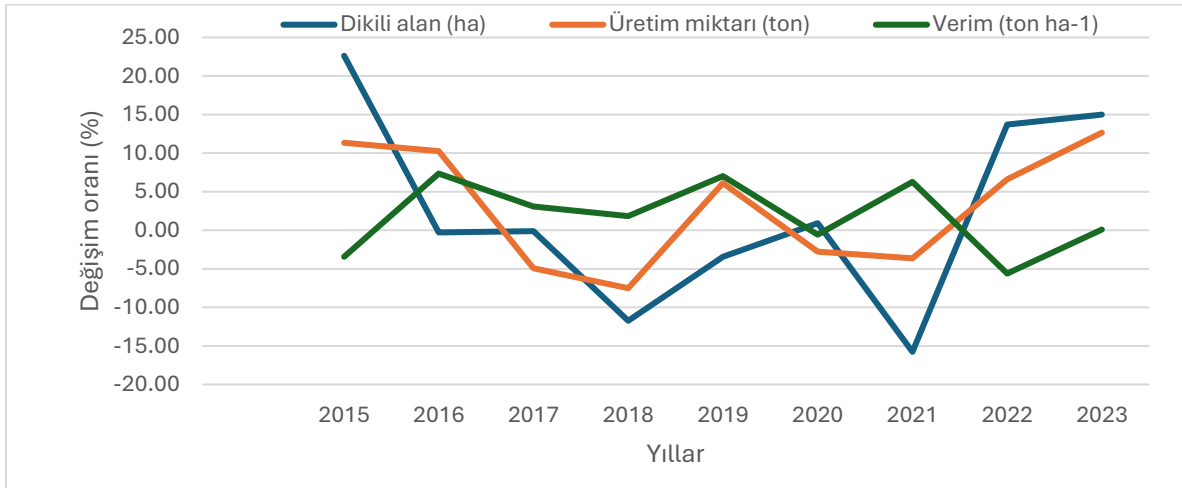
ToC : Toplam CO₂ emisyonu (gCO₂) ve

ÜrM : Üretilen ürün miktarıdır (kg_{ürün}).

TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yıllarına ait 10 yıllık hesaplanan toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyonunun değişimi değerleri dikkate alınarak, bu parametreler için değer artış ve azalışlarına ait yüzde oranları hesaplanmış, bu yüzde oranların projeksiyon ortalama katsayıları belirlenmiştir. 2024-2023 yılları için bir önceki yıla ait ToCO, ÖYT ve ÖCEM değerleri ile o parametreye ait projeksiyon katsayıları çarpılıp, katsayılardaki azalış veya artışları doğrultusunda TR71 Bölgesindeki patates üretimindeki toplam CO₂ emisyonu (ToCO), özgül yakıt tüketimi (ÖYT) ve özgül CO₂ emisyonu (ÖCEM) için gelecek 2024-2033 yılları arasındaki projeksiyonları hesaplanmıştır (Altuntaş, 2020).

Bulgular ve Tartışma

TR71 Bölgesi için sera gazları salınımına dayalı olarak hesaplanan toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyonu, Bölgeye ait patates dikim alanı, üretim miktarı ve verim değerlerinden etkilenmektedir (Tablo 1). Buna göre TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yılları için TR71 Bölgesindeki 2014-2023 yıllarına göre son 10 yıllık dönemde patates üretiminde hesaplanan ortalama toplam CO₂ emisyonu (ToCO), özgül yakıt tüketimi (ÖYT) ve özgül CO₂ emisyonu (ÖCEM) değerleri Tablo 4'te verilmiştir. Buna göre TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yılları için dikim alanı, üretim miktarı ve verim değerlerinin bir önceki yıllara göre değişimleri Şekil 1'de verilmiştir.

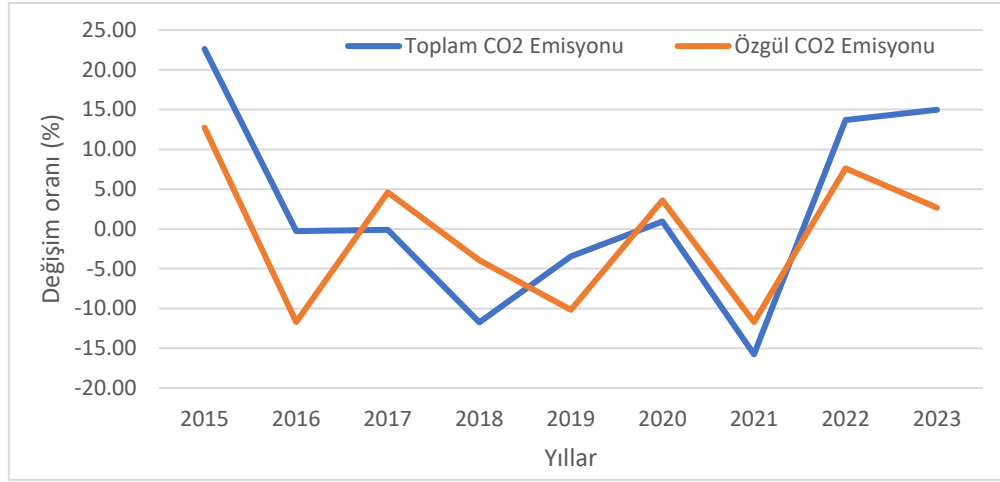


Şekil 1. TR71 Bölgesindeki patates üretimine ait değerlerdeki yıllara göre değişim

Tablo 4. TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yılları arasındaki toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyonunun değişimi

Yıllar	ToCO (Toplam CO ₂ emisyonu, ktCO ₂)	ÖYT (Özgül yakıt tüketimi, g _{yakıt} kg _{ürün} ⁻¹)	ÖCEM (Özgül CO ₂ emisyonu gCO ₂ kg _{ürün} ⁻¹)
2014	3.125	0.843	2.882
2015	4.038	0.966	3.303
2016	4.028	0.865	2.957
2017	4.023	0.907	3.099
2018	3.600	0.872	2.982
2019	3.480	0.792	2.707
2020	3.513	0.821	2.808
2021	3.035	0.735	2.514
2022	3.517	0.796	2.720
2023	4.137	0.818	2.795
Ortalama	3.650	0.841	2.877

TR71 Bölgesi için patates üretiminin 2014-2023 yılları arasındaki fosil yakıt kaynaklı (dizel+yağ) toplam CO₂ emisyonunu ortalaması 3.650 ktCO₂, özgül yakıt tüketimi ortalaması 0.841 g_{yakıt} kg_{ürün}⁻¹ ve özgül CO₂ emisyonu ortalaması ise 2.877 gCO₂ kg_{ürün}⁻¹ olarak belirlenmiştir (Tablo 4). Şekil 2’de, TR71 Bölgesi için 2014-2023 yılları arasındaki patates üretiminde bir önceki yıla ait toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyonunun değişimi verilmiştir.



Şekil 2. TR71 Bölgesi için patates üretimindeki toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyonunun değerlerindeki yıllara göre değişim

TR71 Bölgesi için patates üretiminde, son 10 yıllık dönemde en düşük toplam CO₂ emisyonu 2021 yılında 3.035 ktCO₂, en düşük özgül yakıt tüketimi 2021 yılında 0.735 g_{yakıt} kg_{ürün}⁻¹ ve en düşük özgül CO₂ emisyonunun ise 2021 yılında 2.514 gCO₂ kg_{ürün}⁻¹ olduğu belirlenmiştir. TR71 Bölgesi için patates üretiminde, son 10 yıldaki en yüksek ToCO, ÖYT ve ÖCEM değerlerinin ise sırasıyla 2023 yılında 4.137 ktCO₂, 2015 yılında 0.966 g_{yakıt} kg_{ürün}⁻¹ ve 2015 yılında 3.303 gCO₂ kg_{ürün}⁻¹ olduğu belirlenmiştir.

Mohammadi vd. (2008), patates üretiminde toplam enerji girdisi içerisinde yakıt enerjisinin (%15.8); Hamedani vd. (2011), patates üretiminde en yüksek enerji girdileri içerisinde yakıt enerjisi (%21) girdisinin olduğunu, Bahktiari vd. (2015) ise patates üretiminde toplam enerjisi girdisi içerisinde yakıt enerjisi (%18.71) oranına sahip olduğunu; Özgöz vd. (2017), toplam enerji girdisi içerisinde yakıt+yağ enerjisi girdilerinin kimyasal gübre ve tohumdan sonra 3. sırada yer aldığını açıklamaktadır.

Pishgar-Komleh vd. (2012), İran-İsfahan eyaletindeki patates üretiminde enerji tüketimi ve CO₂ emisyonunu incelemişlerdir. Toplam enerji tüketimi ve sera gazı emisyonunun sırasıyla 47 GJ ha⁻¹ ve 992.88 kg CO₂ ha⁻¹ eş değeri olduğunu bulmuşlardır. En önemli enerji kullanımının kimyasal gübre (%49), ve %24'lük pay ile tohumluk girdisi olduğunu açıklamışlardır. Bu çalışmada yakıt ve yağ kullanım kaynaklı sera gazı emisyon değerlerinin 2014-2023 yılları arasındaki ortalamasının 3.650 ktCO₂ olduğu bulunmuştur. TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yıllarına ait ToCO, ÖYT ve ÖCEM değerleri dikkate alınarak 2024-2033 yıllarına ait projeksiyonları tahminleri hesaplanarak, Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 5’te, TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yıllar için CO₂ emisyonu değerleri, özgül yakıt tüketimi ve özgül CO₂ emisyonu değerleri dikkate alınarak 2024-2033 yıllarına ait geçmiş yıllardaki değişim oranlarına göre elde edilen projeksiyon katsayıları incelendiğinde, ToCO için 3.983, ÖYT ve ÖCEM parametreleri için 0.016 olduğu görülmüştür. Gelecek yıllara göre her bir parametre olarak toplam CO₂ emisyonunun düşme eğiliminde, özgül yakıt tüketiminin ve özgül CO₂ emisyon değerlerinin ise artma eğilimi göstereceği tahmin edilmektedir. 2033 yılında TR62 Bölgesi için patates üretiminde ToCo, ÖYT ve ÖCEM değerlerinin sırasıyla 4.7529 ktCO₂, 0.8188 g_{yakıt} kg_{ürün}⁻¹ ve 2.7994 gCO₂ kg_{ürün}⁻¹ olacağı ön görülmektedir.

Tablo 5. TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yıllarına ait ToCO, ÖYT ve ÖCEM değerleri dikkate alınarak 2024- 2033 yıllarına ait projeksiyonları tahminleri.

Yıllar	ToCO (ktCO ₂)	ÖYT (g _{yakıt} kg _{ürün-1})	ÖCEM (gCO ₂ kg _{ürün-1})
2014	3.125	0.843	2.882
2015	4.038	0.966	3.303
2016	4.028	0.865	2.957
2017	4.023	0.907	3.099
2018	3.600	0.872	2.982
2019	3.480	0.792	2.707
2020	3.513	0.821	2.808
2021	3.035	0.735	2.514
2022	3.517	0.796	2.720
2023	4.137	0.818	2.795
Projeksiyon katsayısı	3.983	0.016	0.016
2024	4.1945	0.8177	2.7953
2025	4.2531	0.8178	2.7958
2026	4.3126	0.8179	2.7962
2027	4.3729	0.8180	2.7967
2028	4.4341	0.8182	2.7971
2029	4.4961	0.8183	2.7976
2030	4.5589	0.8184	2.7980
2031	4.6227	0.8186	2.7985
2032	4.6873	0.8187	2.7989
2033	4.7529	0.8188	2.7994

Sonuç

Çalışmada, TR71 Bölgesindeki patates üretiminde yakıt kaynaklı karbondioksit emisyonu belirlenmiştir. Özgül CO₂ emisyonu ile patates üretim miktarları birlikte değerlendirildiğinde yıllara göre değişimler incelenirse, genel olarak özgül CO₂ emisyonunun patates üretim miktarları artıka artma eğiliminde olduğu görülmüştür.

TR71 Bölgesi için patates üretiminde 2014-2023 yıllarına ait ToCO, ÖYT ve ÖCEM değerleri dikkate alınarak elde edilen 2024-2033 yıllarına ait projeksiyon tahminleri incelendiğinde, gelecek yıllara göre her bir parametre olarak toplam CO₂ emisyonu, özgül yakıt tüketiminin ve özgül CO₂ emisyon değerlerinin ise artma eğilimi göstereceği tahmin edilmektedir. TR71 Bölgesi için patates üretimi ve diğer tüm ürün üretim sistemlerinde CO₂ emisyon değerlerinin düşürülmesi için çevreyle dost yeni üretim planlamalarının yapılması ve bu konuda çiftçilerin yönlendirilmesine gereksinim duyulmaktadır. Patates üretiminde fosil kaynaklı yakıtlara alternatif verimli ve çevre dostu olan yenilenebilir enerji kaynaklarını kullanmak, bunun yanında kimyasal gübre ve tarımsal ilaç kullanımının sınırlandırılması gerekmektedir.

Yazar Katkı Oranları

Yazar olarak bu çalışmanın tamamının tarafımdan hazırlandığını beyan ederim.

Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmanın yazarı olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanım bulunmadığını bildiririm.

Etik Kurul Onayı


Bu çalışmanın yazarı olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririm.

Kaynaklar

- Ağaçayak, T., & Öztürk, L. (2017). Türkiye’de tarım sektöründen kaynaklanan sera gazı emisyonlarının azaltılmasına yönelik stratejiler. İstanbul Politikalar Merkezi (İPM–MERCATOR Politika Notu). İmak Ofset Basım Yayın San. ve Tic. Ltd. Şti.
- Alpkent, N., (1984). Tarımda enerji kullanımı ve enerji tasarrufu. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları No: 296. Ankara.
- Altuntaş, E., & Asiltürk, M. (2011). Plant emergence, potato yield and yield components as affected by timing of tillage systems. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 7(4), 421-428.
- Altuntaş, E. (2020). Türkiye’deki tarım makineleri kullanım projeksiyonunun tahmini. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6(3), 506 – 516.
- Anonim. (2024). TR71 Bölgesi. <https://www.ahika.gov.tr/bolgemiz/bir-bakista-tr71-bolgesi/> (Erişim tarihi: 1.09.2024).
- Anonim. (2013). TR71 Düzey 2 Bölgesi tarım ve hayvancılık sektöründe mevcut durum ve 2014-2023 yılları stratejileri ve hedefleri raporu. Nisan, 2013. https://www.ahika.gov.tr/assets/upload/dosyalar/ahika_2013_tr
- Aydın, A., & Aktuz N. C. (2023). Sürdürülebilir tarım için iklim değişikliğine ekosistem tabanlı uyum faaliyetleri. *Çevre, Şehir ve İklim Dergisi*, 2(3), 132-157.
- Aydın, A. (2023). Tarım sektöründen kaynaklı sera gazı emisyonlarının hesaplanması; Enterik fermantasyon. *Uluslararası Gıda, Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 3(1), 40-54.
- Bakhtiari, A. A., Hematian, A., & Moradipour, M. (2015). Energy, economic and GHG emissions analysis of potato production. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 6(2), 398-406.
- Beşergil, B. (2009). Yakıtlar yağlar. Ege Üniversitesi Basımevi; İzmir.
- Bilgili, M. E., & Aybek, A. (2018). Doğu Akdenizde zeytin üretiminde yakıt tüketimi sonucunda oluşan karbondioksit emisyonu durumu. *3rd International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC 2018)*, Çukurova University, Congress Center, October 24-26, 2018, Adana.
- Eren, Ö., Gokdogan, O., & Baran, M. F. (2019). Determination of greenhouse gas emissions (Ghg) in the production of different plants in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(2A), 1040-1043.
- Gotasa, P., Wysokiński, M., Bieńkowska-gotasa, W., Gradziuk, P., Golonko, M., Gradziuk, B., Siedlecka, A., & Gromada, A. (2021). Sources of greenhouse gas emissions in agriculture, with particular emphasis on emissions from energy used. *Energies*, 14(13), en14133784
- Gözübüyük, Z., Çelik, A., Öztürk, İ., Demir, O., & Adıgüzel, M.C. (2012). Buğday üretiminde farklı toprak işleme-ekim sistemlerinin enerji kullanım etkinliği yönünden karşılaştırılması. *Tarım Makineleri Bilimi Dergisi*, 8(1), 25-34.
- Hayaloğlu, P., 2018. İklim değişikliğinin tarım sektörü ve ekonomik büyüme üzerindeki etkileri. Gümüşhane Üniversitesi *Sosyal Bilimler Dergisi*, 9(25), 51-62.
- Hamedani, S. R., Sahabani, Z., & Rafree, S. (2011). Energy inputs and crop yield relationship in potato production in Hamadan province of Iran, *Energy*, 36, 2367-2371.
- IPCC. (1996). Guidelines for national greenhouse gas inventories. Volume 2, Section 1.
- IPCC. (2013). The physical science basis. contribution of working group 1 to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp, 2013.
- IPCC. (2014). Intergovernmental panel on climate change AR5-Fifth Assessment Report. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kuzu, H., Bilgili, M. E., Aybek, A., & Özekin, M. (2024). Doğu Akdeniz Bölgesinde patates ve mısır üretiminde yakıt tüketiminden kaynaklı karbondioksit emisyonunun belirlenmesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 684-693.
- Küsek, G. (2018). Güneydoğu anadolu bölgesinde mercimek üretiminde yakıt tüketimine bağlı olarak gerçekleşen karbondioksit emisyonlarının değerlendirilmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(4): 572-584.
- Lal, R. (2004). Carbon emission from farm operations. *Environment International*, 30(7), 981-990.
- Massey, R., McClure, H., & Schneider, R. (2019). Agriculture and greenhouse gas emissions. University of Missouri: Columbia-Extension Publication, 2019.
- <https://mospace.umsystem.edu/xmlui/bitstream/handle/10355/71743/g00310-2019MarchRevised.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Erişim Tarihi: 14.09.2023)
- Mohammadi, A., Tabatabaeefar, A., Shahin, S., Rafiee, S., Keyhani, A. (2008). Energy use and economical analysis of potato production in Iran a case study: Ardabil province. *Energy Conversion and Management*, 49, 3566e70. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.07.003>
- Özcan, M. T. (1985). Mercimek hasat ve harman yöntemlerinin iş verimi kalitesi, enerji tüketimi ve maliyet yönünden karşılaştırılması ve uygun bir hasat makinası geliştirilmesi üzerine araştırmalar. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Tarımsal Mekanizasyon Bölümü. Adana

- Özgöz, E., Altuntaş, E., & Asiltürk, M. (2017). Effects of soil tillage on energy use in potato farming in Central Anatolia of Turkey. *Energy*, 141, 1517-1523.
- Öztürk, H. H., & Vulkan, E. V. (2017). Türkiye’de patates ve mısır üretiminde yakıt tüketimine bağlı olarak gerçekleşen karbondioksit emisyonlarının değerlendirilmesi. 4. Uluslararası Multidisipliner Avrasya Kongresi (IMCOFE), 23-25 Ağustos 2017, sayfa no:13-23, Roma.
- Öztürk, H. H. (2017). Energetic and environmental comparison of rapeseed cultivation systems. LAMBERT Academic Publishing, Deutschland.
- Öztürk, H. H., Gözübüyük, Z., Atay, U. (2017). Türkiye’de pamuk üretiminde yakıt tüketimine bağlı olarak gerçekleşen karbondioksit emisyonlarının değerlendirilmesi. 3. Uluslararası Tarım ve Çevre Kongresi, 16-18 Kasım 2017, sayfa no: 21-30, Antalya.
- Pishgar-Komleh, S. H., Ghahderijani, M., & Sefeedpari, P. (2012). Energy consumption and CO2 emissions analysis of potato production based on different farm size levels in Iran. *Journal of Cleaner Production*, 33, 183-191.
- Smagulova, S., Adil, J., Tanzharikova, A., & Imashev, A. (2017). The economic impact of the energy and agricultural complex on greenhouse gas emissions in Kazakhstan. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 7(4), 252-259.
- Tokay, Z. (2018). Türkiye’nin çeltik yetiştiriciliği kaynaklı sera gazı emisyonlarının değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği ABD., Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, s. 94, Ankara.
- TÜİK (2024). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel üretim istatistikleri, 2024. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=134&locale=tr> (Erişim tarihi: 02.08.2024)
- TÜİK (2020). Sera Gazı Emisyon İstatistikleri, 1990-2020. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Sera-Gazi-Emisyon-Istatistikleri-1990-2020-45862#>. (Erişim tarihi: 10.08.2024).
- Vatansever Deviren, N., & Çelik, N. (2017). Dünyada ve Türkiye’de organik tarımın ekonomik açıdan değerlendirilmesi, *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 10(48), 669-678.

Composition of Secondary Endosymbiont Bacteria in Two Whitefly Species (*Hemiptera: Aleyrodidae*)

Zülal TAT¹  Erhan KOÇAK¹ 

¹ Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Abstract

Tobacco whitefly *Bemisia tabaci* and greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*, which have a wide host range, are among the most important plant protection problems in agricultural areas all over the world. Within the scope of the study, the infection status of endosymbiont bacteria *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Arsenophonus* in the whiteflies was determined by molecular methods. Whiteflies *T. vaporariorum* and *B. tabaci* populations were collected from tomato greenhouses at five different locations in Antalya province. This study is the first for endosymbionts of Turkish *T. vaporariorum* populations. All the three endosymbionts were found in *T. vaporariorum* and *B. tabaci* populations. While *Arsenophonus* was the most frequently found endosymbiont in both whitefly populations, *Wolbachia* was found in high rates in *T. vaporariorum* and *Rickettsia* in *B. tabaci*. In addition, endosymbiont compositions in individuals belonging to both species were revealed as single, double and triple. *Wolbachia* (W) and *Rickettsia* (R) were not found together in any individual of both whitefly species. Out of WR, all single and other multiple endosymbiont combinations were detected in the individuals. However, any infection was not recorded for few individuals from the populations of both species.

Article Info

Received: 09.10.2024

Accepted: 26.11.2024

Anahtar Kelimeler

Arsenophonus
Bemisia tabaci
Rickettsia Trialeurodes
Vaporariorum
Wolbachia


İki Beyazsinek Türünde (*Hemiptera: Aleyrodidae*) Sekonder Endosimbiont Bakterilerin Kompozisyonu

Öz

Geniş konukçu dizisine sahip olan Tütün beyazsineği *Bemisia tabaci* ve Sera beyazsineği *Trialeurodes vaporariorum* tüm dünyada tarımsal alanlarda var olan en önemli bitki koruma sorunları içerisinde ilk sıralarda yer almaktadır. Çalışma kapsamında Antalya İlinde beş farklı lokasyondaki seralarda domateslerden toplanan beyazsinekler *T. vaporariorum* ve *B. tabaci* popülasyonlarında endosimbiont bakteriler *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Arsenophonus*'un bulaşı durumu moleküler yöntemlerle saptanmıştır. Bu çalışma, Türkiye'de *T. vaporariorum* popülasyonlarındaki endosimbiontlar için yapılan ilk çalışmadır. Her üç endosimbiont *T. vaporariorum* ve *B. tabaci* popülasyonlarında saptanmıştır. Her iki beyazsinek popülasyonunda en sık bulunan endosimbiont *Arsenophonus* olurken *Wolbachia*, *T. vaporariorum*'da ve *Rickettsia* ise *B. tabaci*'de yüksek oranda belirlenmiştir. Ayrıca, her iki türe ait bireylerdeki endosimbiont kompozisyonları tekli, ikili ve üçlü olarak ortaya konulmuştur. *Wolbachia* (W) and *Rickettsia* (R) her iki beyazsinek türünde de birlikte bulunmamıştır. Buna karşın tekli, üçlü ve diğer ikili kombinasyonlar bireylerde belirlenmiştir. Ancak her iki türün popülasyonlarından birkaç bireyde herhangi bir enfeksiyon görülmemiştir.

Keywords

Arsenophonus
Bemisia tabaci
Rickettsia Trialeurodes
Vaporariorum
Wolbachia

 Corresponding Author
erhankocak@isparta.edu.tr

Introduction

There are many harmful arthropod species affecting the yield and quality of tomatoes in Turkey, as well as all over the world. Whiteflies (*Hemiptera: Aleyrodidae*) are among these pests. Whiteflies weaken the plant by directly biting and sucking the plant sap, which is secreted over feeding area causing fumagine damage as a result of saprophytic fungi development. Furthermore, they are vectors of many plant virus diseases (Jones, 2003). Whiteflies are very difficult pests to control because they prefer abaxial part of leaves for feeding during both adult and larval stages, have a rapid reproduction capacity, and also produce

many offspring within a production season, have a very large number of host series, and develop resistance to insecticides.

It has been reported that some secondary symbiont bacteria in whiteflies may effect several host fitness parameters towards temperature, and insecticides tolerance virus harborage and transmission rate (Brumin et al., 2011; Kliot et al., 2014; Rossitto De Marchi and Smith, 2020), and increase resistance to parasitoids (Xue et al., 2012). Rapid advances in molecular biology and functional genomics studies allow a better understanding of the relationship between plants, insects, and symbionts. The first molecular identification of whitefly endosymbionts were carried out by Clark et al. (1992). Later, Costa et al. (1995) determined that whiteflies can harbor many secondary endosymbionts. In order to develop and apply whitefly control methods based on endosymbiotic bacteria, we need to know the whitefly-endosymbiont relationship. *Wolbachia*, *Arsenophonus*, and *Rickettsia* are among the most studied secondary endosymbionts in whiteflies. *Wolbachia* was first reported in whiteflies in 1998 (Zchori-Fein and Brown, 2002), *Arsenophonus* in 2001 (Milenovic et al., 2022), and *Rickettsia* in 2006 (Gottlieb et al. 2006).

Studies have been carried out worldwide to determine the endosymbiont bacteria together in the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* populations (Zchori-Fein and Brown, 2002; Nirgianiki et al., 2003; Thao and Baumann, 2004a; Skaljic et al., 2010; Marubayashi et al., 2014; Skaljic et al., 2017); however, there is no study on *T. vaporariorum* alone, while numerous studies have been conducted on endosymbionts in *B. tabaci* (Gottlieb et al., 2006; Chiel et al., 2007; Brumin et al., 2011; Tsagkarakou et al., 2012; Raina et al., 2015; Tang et al., 2018; Kareem et al., 2020; Rossitto De Marchi and Smith, 2020; Barman et al., 2022; Li et al., 2023; Milenovic et al., 2023). In Türkiye, secondary endosymbionts only in *B. tabaci* populations have been determined (Nirgianiki et al., 2003; Karut and Tok, 2014). The aim of the present study was to determine the composition of endosymbiont bacteria *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Arsenophonus* in whiteflies *B. tabaci* and *T. vaporariorum* populations on greenhouse tomatoes in Antalya province.

Material and Method

A total of 25 individuals for each species, five *B. tabaci* and five *T. vaporariorum* adults were collected from each tomato greenhouses in five counties (Kumluca, Aksu, Serik, Manavgat and Alanya) of Antalya province in 2022-2023. When visually examined, *T. vaporariorum* adults are larger than *B. tabaci*, their bodies are lighter yellow, and their wings form a wide angle to each other when at rest, while the wings of *B. tabaci* are horizontal (Hill, 1969). After morphological species identification of adults, the collected whitefly samples were stored in 96% ethanol. The only one individual was placed in each eppendorph tube to determine the endosymbionts in each individual.

Table 1. Primer sequences and annealing temperatures used for PCR amplification of endosymbionts.

Targeted Gene	Primers	Sequencing	Annealing Temperature	Lit.
<i>Wolbachia</i> 16S rDNA	Wol 16S-F	CGGGGGAAAAATTTATTGCT	55 °C	(Chiel et al., 2007)
	Wol 16S-R	AGCTGTAATACAGAAAGTAAA		
<i>Rickettsia</i> 16S rRNA	Rb-F	GCTCAGAACGAACGCTATC	59 °C	(Gottlieb et al., 2006)
	Rb-R	GAAGGAAAGCATCTCTGC		
<i>Arsenophonus</i> 23S rRNA	Ars23S-1	CGTTTGATGAATTCATAGTCAAA	59°C	(Thao ve Bauman, 2004b)
	Ars23S-2	GGTCCTCCAGTTAGTGTACCCAAC		

The alcohole (96%) preserved whitefly individuals were subjected to DNA extraction. GeneJET Genomik DNA Purification Kit (Protocole K0721) was used for DNA extraction from each whitefly individually. DNA from each whitefly individual was used separately for three endosymbionts three times. After that, for detection of three endosymbiotic bacteria (*Wolbachia*, *Arsenophonus*, and *Rickettsia*), diagnostic Touchdown PCR protocol was followed; Initial denaturation for 3 min at 94°C; denaturation for 1 min at 90 °C; annealing for 1 min at 60°C (11x: -1°C) (60°C-50°C); extension for 1 min at 72°C, 11x; denaturation 1 min at 94°C; annealing for 1 min at 55°C; extension 1 min at 72°C, 25x; final extension for 10 min at 72°C. The

specific primer sets were listed in Table 1. PCR samples screened for *Wolbachia* were run in a gel electrophoresis device at 90 Volt, 150 mA for 60 minutes, and for *Rickettsia* and *Arsenophonus* in at 60 Volt, 100 mA and 40 minutes.

Result and Discussion

All three endosymbionts were found in *T. vaporariorum* ve *B. tabaci* populations. While *Arsenophonus* was the most frequently found endosymbiont in both whitefly populations, *Wolbachia* was detected at high rates in *T. vaporariorum* and *Rickettsia* in *B. tabaci* (Figure 1). Endosymbionts in *T. vaporariorum* and *B. tabaci* individuals are presented as single, double and triple in Figure 2 and Figure 3. While *T. vaporariorum* had single infection in 13 out of 25 individuals, double infection in five and triple infection in four, no infection was observed in three individuals. In *B. tabaci*, single infection was observed in 11 individuals, double infection in eight individuals, and triple infection in one individual, while no infection was observed in five individuals (Figure 2). in *T. vaporariorum* and *B. tabaci* populations, *Wolbachia* 8% and 12%, *Rickettsia* 8% and 20%, *Arsenophonus* 36% and 16%, *Wolbachia* + *Arsenophonus* (WA) 12% and 16%, *Rickettsia* + *Arsenophonus* (RA) 8% and 16%, *Wolbachia* + *Rickettsia* + *Arsenophonus* (WRA) 16% and 4%, and no infection 12% and 16% was determined, respectively. *Wolbachia* + *Rickettsia* (WR) infection was not detected in either whitefly species (Figure 3).

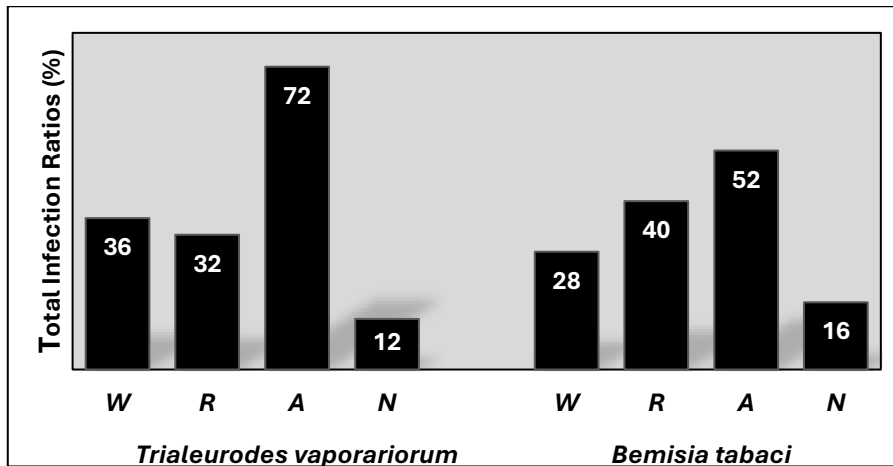


Figure 1. Total infection ratios (%) by secondary bacterial symbionts in *B. tabaci* and *T. vaporariorum* populations from Antalya province. W, *Wolbachia*; R, *Rickettsia*; A, *Arsenophonus*; N, Not infected.

The infection pattern of the secondary symbionts is highly complex and changes according to the geographical regions (Zchori-Fein et al., 2014) and the different genetic groups (Chiel et al., 2007; Ghosh et al., 2015). In our study, the secondary symbionts *Arsenophonus*, *Rickettsia* and *Wolbachia* were found in both whitefly species, and the most common endosymbiont was *Arsenophonus* with 52% and 72% prevalence in *B. tabaci* and *T. vaporariorum*, respectively (Figure 1). Karut and Tok (2014) found that 40% of the samples in Turkish *B. tabaci* populations were infected with *Arsenophonus*, 32.4% with *Hamiltonella*, 25.6% with *Rickettsia* and 8% with *Wolbachia*. Skaljac et al. (2017) identified *Arsenophonus*, *Rickettsia*, *Wolbachia*, *Hamiltonella*, *Fritschea*, and *Cardinium* in *B. tabaci* and *T. vaporariorum* populations in Southeastern Europe. Researchers have emphasized that the most common symbionts were *Arsenophonus* and *Hamiltonella*. *Wolbachia*, *Rickettsia*, and *Arsenophonus* have also been identified in African (Ghosh et al., 2015), Indian (Singh et al., 2012), Israeli (Chiel et al., 2007) and Chinese (Bing et al., 2013) populations of *B. tabaci*. Thao and Baumann (2004b) also identified *Arsenophonus* in *B. tabaci* and *T. vaporariorum*. On the other hand, *Wolbachia* and *Arsenophonus* were not detected for *T. vaporariorum* but determined in *B. tabaci* (Zchori-Fein and Brown, 2002; Nirgianiki et al., 2003). In their study conducted by screening for *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Arsenophonus* in whiteflies in Brazil, Marubayashi et al. (2014) reported that *Arsenophonus* was the only endosymbiont detected in *T. vaporariorum* and *Rickettsia* in *B. tabaci* populations. *Wolbachia* was present at high frequencies while *Arsenophonus* and *Rickettsia* were

absent from Greek populations (Tsagkarakou et al., 2012). Nirgianiki et al. (2003) reported that *Wolbachia* was present in all 13 *B. tabaci* individuals taken from cotton plants in Turkey, but they did not detect *Wolbachia* in tomato populations in Spain, Greece and Brazil. Li et al. (2023) signed that *B. tabaci* populations were infected by *Wolbachia*. *Arsenophonus* showed the highest infection rate (73.07%) in *B. tabaci*, followed by *Rickettsia* (65.38%) and *Wolbachia* (53.84%) (Barman et al., 2022). In our study, although these values were lower, they were similarly *Arsenophonus* 52.0%, *Rickettsia* 40.0% and *Wolbachia* 28.0% (Figure 1). *Hamiltonella* and *Rickettsia* were the secondary endosymbionts in *B. tabaci* populations in Florida (Rossitto De Marchi and Smith, 2020) and in Iraq (Kareem et al., 2020). Milenovic et al. (2023) determined that the most common endosymbiont in *B. tabaci* populations in Sicily was *Rickettsia* with over 90%, and *Wolbachia* with a lower rate.

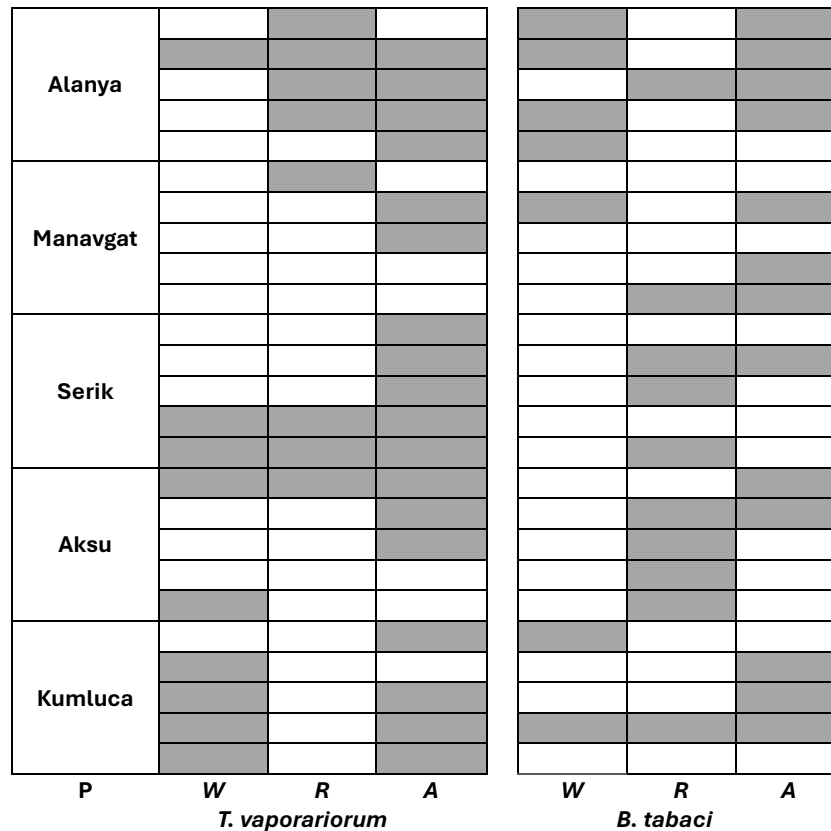


Figure 2. Single and multiple infections in one individual by secondary bacterial symbionts from total 25 individuals, which five individuals from each population in five *B. tabaci* and *T. vaporariorum* populations. Each horizontal row represents one individual, and each column represents one type of symbiont. Gray fields indicate positive infection for the symbiont. P: Populations; W, *Wolbachia*; R, *Rickettsia*; A, *Arsenophonus*.

Co-infections with several different endosymbiont species in the same host are common in various insect groups (Goto et al., 2006). Milenovic et al. (2023) found that *Rickettsia* and *Wolbachia* were rarely found together in *B. tabaci* populations. Gueguen et al. (2010) detected WR in *B. tabaci* in 24 populations from 12 countries only in two populations from Israel. In our study, WR was not found in *B. tabaci* and *T. vaporarium*. Marubayashi et al. (2014) determined that *Arsenophonus* was localized inside the bacteriome, *Rickettsia* outside, and *Wolbachia* inside and outside. In this co-infection case, it is stated that both bacteria are dependent on the coenzyme NAD⁺ (Nicotinamide adenine dinucleotide) found in insect cells and compete for it (Zchori-Fein et al., 2014; Opatovsky et al., 2018). In *B. tabaci*, WA was detected in two populations from Israel and Cambodia, and RA was detected in five populations from Israel and Burkina Faso (Gueguen et al., 2010). In our study, WA was detected in four individuals (4/25) and RA in three individuals (3/25) in *B. tabaci*; in *T. vaporarium*, WA was detected in three individuals (3/25) and RA in two individuals (2/25). WRA infection was detected in only one individual (1/25) in *B. tabaci* and in four individuals (4/25) in *T. vaporarium* (Figure 2). Gueguen et al. (2010) reported this triple infection only in *B. tabaci* from Israel among 12 countries.

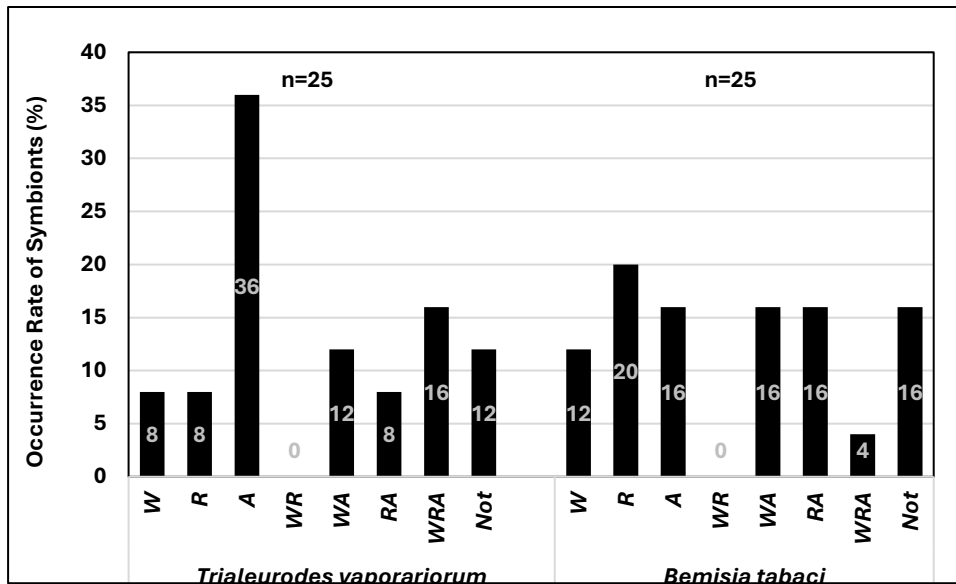


Figure 3. Frequency of secondary symbiont combinations within the greenhouse-collected individuals of *Trialurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci*. W, *Wolbachia*; R, *Rickettsia*; A, *Arsenophonus*; Not, Not infected.

Insecticide resistance in whiteflies has been reported across the world especially in areas of acute insecticide pressure. In Turkey, resistance has also been very common and high in recent years (Sivasupramaniam and Watson 2000, Lapidot et al. 2014, Guo et al. 2020, Erdogan et al., 2021). It has been understood that secondary endosymbionts play a role in the resistance of whiteflies. Kontsedalov et al. (2008) determined that *Rickettsia* increased the susceptibility of *B. tabaci* (B biotype) to insecticides (acetamiprid, thiamethoxam, spiromesifen, and pyriproxyfen). Based on this, they emphasized that *Rickettsia* should be especially taken into consideration and examined in studies to determine insecticide resistance in *B. tabaci* populations. On the other hand, Pan et al. (2013) found that thiamethoxam-resistant *B. tabaci* (B biotype) population harbored more *Rickettsia* than the susceptible population. Ghanim and Kontsedalov (2009) found that *Arsenophonus* increased the resistance of *B. tabaci* (Q biotype) to some other insecticides but less so to acetamiprid. Liu and Guo (2019) found that *Wolbachia* and *Rickettsia* cannot supply a consistent and broad-spectrum resistance for their hosts because of many different factors.

In *B. tabaci* harboring multiple symbionts such as WA and RA, resistance to insecticides diafenthiuron and acetamiprid was higher compared to those harboring only *Arsenophonus* (A), while resistance to thiamethoxam, imidacloprid and pyriproxyfen was lower. Dual infections such as RA or WA increased the resistance of *B. tabaci* to thiamethoxam, imidacloprid, pyriproxyfen and spiromesifen (Ghanim and Kontsedalov, 2009). Alvarez et al. (2024) reported that the most susceptible individuals to insecticides in *B. tabaci* populations harbored *Rickettsia* and *Arsenophonus*, while they were not detected in insecticide-resistant populations. A significant positive linear correlation was observed between the resistance level and relative titer of *Arsenophonus* and *Wolbachia* with imidacloprid and thiamethoxam, while this was only observed between acetamiprid and *Wolbachia* (Barman et al., 2022). One of the benefits of insects having more than one symbiont bacterial species at the same time is the development of resistance against natural enemies (Guay et al., 2009). Recent studies have also shown that secondary symbionts may play a main role in the life of *B. tabaci* and *T. vaporariorum*. For example, it has been determined that *Rickettsia* makes tomatoes more suitable for herbivorous insect feeding, more resistant to fungi and viruses (Kliot et al., 2014; Shi et al., 2024), and increases the heat tolerance of *B. tabaci* (Brumin et al. 2011). When *B. tabaci* and *T. vaporariorum* species are found mixed in the same location and on the same host, bacterial symbionts undergo vertical and horizontal migration (Skaljic et al., 2017; Milenovic et al., 2022). The parallelism in the occurrence of symbionts in these two species in our study supports the above explanation.

Conclusion

We can say that the fact that the secondary endosymbionts determined in both whitefly species and their rates of presence are parallel to each other indicates horizontal transmission. It is also interesting that only *WR* is not found in individuals as a pair. Based on the studies mentioned above and to the development in the biotechnological studies, determination of secondary endosymbiont bacteria in whiteflies; resistance to insecticides, prevention of virus transmission and transmission, infertility in populations, alternative insecticide and antibiotic application, biotechnological methods such as RNAi and Crispr will be necessary for the control. Determination of the races of secondary symbionts and manipulation of insects can be included in the development of pest management strategies in practice.

Acknowledgements

We would like to thank Isparta University of Applied Sciences, Scientific Research Projects Management Unit (BAP) for supporting the Master's thesis with Project No. 2023-YL1-0205.

Author Contributions

The authors contributed equally to the article.

Conflict of Interest

As authors of the manuscript, we declare that we have no conflict of interest.

Ethics Committee Approval

As the authors of the article, we declare that we do not have any ethics committee approval information.



References

- Alvarez, D. D. L., Hayashida, R., Cavallaro, M. C., Santos, D.M., Santos, L. M., Müller, C., Watanabe, L. F. M., Bello, V. H., Krause-Sakate, R., Hoback, W. W., & Oliveira, R. C. D. (2024). Susceptibility of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Mediterranean Populations Found in São Paulo, Brazil to 11 Insecticides and Characterization of Their Endosymbionts. *Insects*, 15(9), 670.
- Barman, M., Samanta, S., Upadhyaya, G., Thakur, H., Chakraborty, S., Samanta, A., & Tarafdar, J. (2022). Unraveling the basis of neonicotinoid resistance in whitefly species complex: Role of endosymbiotic bacteria and insecticide resistance genes. *Frontiers in Microbiology*, 13, 901793.
- Bing, X. L., Yang, J., Zchori-Fein, E., Wang, X. W., & Liu, S. S. (2013). Characterization of a newly discovered symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Applied of Environmental Microbiology*, 79, 569–575.
- Brumin, M., Kontsedalov, S., & Ghanim, M. (2011). *Rickettsia* influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype. *Insect Science*, 18(1), 57-66.
- Chiel, E., Gottlieb, Y., Zchori-Fein, E., Mozes-Daube, N., Katzir, N., Inbar, M., & Ghanim, M. (2007). Biotype-dependent secondary symbiont communities in sympatric populations of *Bemisia tabaci*. *Bulletin of Entomological Research*, 97(4), 407-413.
- Clark, M. A., Baumann, L., Munson, M. A., Baumann, P., Campbell, B. C., Duffus, J. E., Osborne, L. S., & Moran, N. A. (1992). The eubacterial endosymbionts of whiteflies (Homoptera: Aleyrodoidea) constitute a lineage distinct from the endosymbionts of aphids and mealybugs. *Current Microbiology*, 25, 119–123.
- Costa, H. S., Westcot, D. M., Ullman, D. E., Rosell, R., Brown, J. K., & Johnson, M. W. (1995). Morphological variation in *Bemisia* endosymbionts. *Protoplasma*, 189, 194–202.
- Erdogan, C., Velioglu, A. S., Gurkan, M. O., Denholm, I., & Moores, G. D. (2021). Detection of resistance to pyrethroid and neonicotinoid insecticides in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Crop Protection*, 146, 105661.
- Ghanim, M., & Kontsedalov, S. (2009). Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 65(9), 939-942.
- Ghosh, S., Bouvaine, S., & Maruthi, M. N. (2015). Prevalence and genetic diversity of endosymbiotic bacteria infecting cassava whiteflies in Africa. *BMC Microbiology*, 15, 93.

- Goto, S., Anbutsu, H., & Fukatsu, T. (2006). Asymmetrical interactions between *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts coexisting in the same insect host. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 4805-4810.
- Gottlieb, Y., Ghanim, M., Chiel, E., Gerling, D., Portnoy, V., Steinberg, S., & Zchori-Fein, E. (2006). Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3646-3652.
- Guay, J. F., Boudreault, S., Michaud, D., & Cloutier, C. (2009). Impact of environmental stress on aphid clonal resistance to parasitoids: role of *Hamiltonella defensa* bacterial symbiosis in association with a new facultative symbiont of the pea aphid. *Journal of Insect Physiology*, 55(10), 919-926.
- Gueguen, G., Vavre, F., Gnankine, O., Peterschmitt, M., Charif, D., Chiel, E., & Fleury, F. (2010). Endosymbiont metacommunities, mtDNA diversity and the evolution of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex. *Molecular Ecology*, 19(19), 4365-4376.
- Guo, L., Lv, H., Tan, D., Liang, N., Guo, C., & Chu, D. (2020). Resistance to insecticides in the field and baseline susceptibility to cyclaniliprole of whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in China. *Crop protection*, 130, 105065.
- Hill, B. (1969). A morphological comparison between two species of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) and *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae) which occur on tobacco in the Transvaal. *Phytophactica*, 1, 127-146.
- Jones D. R. (2003). Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109(3), 195-219.
- Kareem, A. A., Logan, S. A., Port, G., & Wolff, K. (2020). *Bemisia tabaci* in Iraq: Population structure, endosymbiont diversity and putative species. *Journal of Applied Entomology*, 144(4), 297-307.
- Karut, K., & Tok, B. (2014). Secondary endosymbionts of Turkish *Bemisia tabaci* (Gennadius) populations. *Phytoparasitica*, 42, 413-419.
- Kliot, A., Cilia, M., Czosnek, H., & Ghanim, M. (2014). Implication of the bacterial endosymbiont *Rickettsia* spp. in interactions of the whitefly *Bemisia tabaci* with tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virology*, 88(10), 5652-5660.
- Kontsedalov, S., Zchori-Fein, E., Chiel, E., Gottlieb, Y., Inbar, M., & Ghanim, M. (2008). The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 64(8), 789-792.
- Lapidot, M., Legg, J. P., Wintermantel, W. M., & Polston, J. E. (2014). Management of whitefly-transmitted viruses in open-field production systems. In *Advances in virus research*, 90, 147-206.
- Li, H., Jiang, Z., Zhou, J., Liu, X., Zhang, Y., & Chu, D., (2023). Ecological factors associated with the distribution of *Bemisia tabaci* cryptic species and their facultative endosymbionts. *Insects*, 14(3), 252.
- Liu, X. D. & Guo, H. F. (2019). Importance of endosymbionts *Wolbachia* and *Rickettsia* in insect resistance development. *Current Opinion in Insect Science*, 33, 84-90.
- Marubayashi, J. M., Kliot, A., Yuki, V. A., Rezende, J. A. M., Krause-Sakate, R., Pavan, M. A., & Ghanim, M. (2014). Diversity and localization of bacterial endosymbionts from whitefly species collected in Brazil. *PLoS one*, 9(9), e108363.
- Milenovic, M., Ghanim, M., Hoffmann, L., & Rapisarda, C. (2022). Whitefly endosymbionts: IPM opportunity or tilting at windmills? *Journal of Pest Science*, 95(2), 543-566.
- Milenovic, M., Massimino Cocuzza, G. E., Suma, P., & Farina, A. (2023). Geographic distribution of *Bemisia tabaci* species in Sicily and patterns in facultative endosymbiont community composition. *Journal of Applied Entomology*, 147(10), 908-915.
- Nirgianiki, A., Banks, G. K., Frohlich, D. R., Veneti, Z., Braig, H. R., Miller, T. A., & Bourtzis, K. (2003). *Wolbachia* infections of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Current Microbiology*, 47, 0093-0101.
- Opatovsky, I., Santos-Garcia, D., Ruan, Z., Lahav, T., Ofaim, S., Mouton, L., Barbe, V., Jiang, J., Zchori-Fein, E., & Freilich, S. (2018). Modeling trophic dependencies and exchanges among insects' bacterial symbionts in a host-simulated environment. *BMC Genomics*, 19, 1-14.
- Pan, H. P., Chu, D., Liu, B. M., Xie, W., Wang, S. L., Wu, Q. J., Xu, B. Y., Zhang, Y. J. (2013). Relative amount of symbionts in insect hosts changes with host-plant adaptation and insecticide resistance. *Environmental entomology*, 42(1), 74-78.
- Raina, H. S., Rawal, V., Singh, S., Daimei, G., Shakarad, M., & Rajagopal, R. (2015). Elimination of *Arsenophonus* and decrease in the bacterial symbionts diversity by antibiotic treatment leads to increase in fitness of whitefly, *Bemisia tabaci*. *Infection, Genetics and Evolution*, 32, 224-230.
- Rossitto De Marchi, B., & Smith, H. A. (2020). Bacterial endosymbiont diversity among *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations in Florida. *Insects*, 11(3), 179.
- Shi, P. Q., Wang, L., Chen, X. Y., Wang, K., Wu, Q. J., Turlings, T. C., Zhang, P. J., & Qiu, B. L. (2024). *Rickettsia* transmission from whitefly to plants benefits herbivore insects but is detrimental to fungal and viral pathogens. *Mbio*, 15(3), 02448-23.

- Singh, S.T., Priya, N.G., Kumar, J., Rana, V.S., Ellango, R., Joshi, A., Priyadarshini, G., Asokan, R., & Rajagopal, R. (2012). Diversity and phylogenetic analysis of endosymbiotic bacteria from field caught *Bemisia tabaci* from different locations of North India based on 16S rDNA library screening. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(2), 411-419.
- Sivasupramaniam, S., & Watson, T. F. (2000). Selection for fenpropathrin and fenpropathrinacephate resistance in the silverleaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(3), 949-954.
- Skaljic, M., Zanic, K., Ban, S. G., Kontsedalov, S., & Ghanim, M. (2010). Co-infection and localization of secondary symbionts in two whitefly species. *BMC Microbiology*, 10(1), 1-15.
- Skaljic, M., Kanakala, S., Zanic, K., Puizina, J., Lepen Pleic, I., & Ghanim, M. (2017). Diversity and phylogenetic analyses of bacterial symbionts in three whitefly species from Southeast Europe. *Insects*, 8(4), 113.
- Tang, X. T., Cai, L., Shen, Y., & Du, Y. Z. (2018). Diversity and evolution of the endosymbionts of *Bemisia tabaci* in China. *PeerJ*, 6, 5516.
- Thao, M. L., & Baumann, P. (2004a). Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), 3401-3406.
- Thao, M. L., & Baumann, P. (2004b). Evidence for multiple acquisition of *Arsenophonus* by whitefly species (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Current Microbiology*, 48, 140-144.
- Tsagkarakou, A., Mouton, L., Kristoffersen, J. B., Dokianakis, E., Grispou, M., & Bourtzis, K. (2012). Population genetic structure and secondary endosymbionts of Q *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Greece. *Bulletin of Entomological Research*, 102(3), 353-365
- Xue, X., Li, S. J., Ahmed, M. Z., De Barro, P. J., Ren, S. X., & Qiu, B. L. (2012). Inactivation of *Wolbachia* reveals its biological roles in whitefly host. *PLoS One*, 7(10), 48148.
- Zchori-Fein, E., & Brown, J. K. (2002). Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(6), 711-718.
- Zchori-Fein, E., Lahav, T., & Freilich, S. (2014). Variations in the identity and complexity of endosymbiont combinations in whitefly hosts. *Frontiers in Microbiology*, 5, 310. doi: 10.3389/fmicb.2014.00310.

Isolation and Characterization of Some Genes Involved in Essential Oil Synthesis in Endemic Sütçüler Thyme (*Origanum minutiflorum*)

Civan ÇELİK¹  Yaşar KARAKURT¹ 

¹ Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology, 76644, ISPARTA- TÜRKİYE

Abstract

Origanum minutiflorum, is an endemic species found in the Sütçüler district of Isparta province, Turkey. This study aimed to isolate and characterize the 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase (OmDXR) and terpene synthase 1 (OmTPS-1) genes, which play roles in essential oil biosynthesis in *O. minutiflorum*. For this purpose, total RNA was isolated from thyme leaves, and the sequence information of the target genes was obtained using gene-specific primers. The sequences were compared with those from other species in the NCBI database using BLAST programs. The nucleotide sequences were translated into protein sequences using ExPASy Tools, the three-dimensional structures of the encoded proteins were constructed with 3D SWISS-MODEL, and phylogenetic relationships of nucleotide and protein sequences were analyzed using the MEGA X version 11 software package. The results showed that the full-length cDNA nucleotide sequence of the OmDXR gene is 1,700 base pairs (bp), and its nucleotide sequence displayed 74.22%-81.07% similarity to nucleotide sequences from other species in previous studies, while the protein sequence showed 70.92%-72.95% similarity. The full-length cDNA nucleotide sequence of the OmTPS-1 gene was determined to be 1.836 bp, and its nucleotide sequence exhibited 75.99%-89.58% similarity to nucleotide sequences from other species, while the protein sequence showed 51.66%-69.88% similarity. This study represents the first molecular-based research on the *O. minutiflorum* species. Therefore, it will provide a valuable resource for future studies.

Article Info

Received: 10.10.2024

Accepted: 18.12.2024

Keywords

DXR
Gen klonlama
Origanum minutiflorum
Terpen sentaz
Uçucu yağ

Endemik Sütçüler Kekiginde (*Origanum minutiflorum*) Uçucu Yağ Sentezinde Rol Oynayan Bazı Genlerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Öz

Origanum minutiflorum, Türkiye'de Isparta ilinin Sütçüler ilçesinde yetişen endemik bir türdür. Bu çalışmada *O. minutiflorum* bitkisinden uçucu yağ sentezinde görev alan 1-deoksi-D-ksilüloz fosfat redüktiozomeraz (OmDXR) ve terpen sentaz 1 (OmTPS-1) genlerinin izolasyonu ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda kekik yapraklarından toplam RNA izole edilmiş ve hedef genlere özgü primerler ile genlerin sekans bilgileri elde edilmiştir. Sekans bilgileri BLAST programları kullanılarak, NCBI veri bankasında bulunan ve farklı türlerden elde edilen gen sekansları ile karşılaştırılmıştır. Nükleotid dizilerin protein dizisine dönüştürülmesinde ExPASy Tools, kodlanan proteinlerin 3 boyutlu yapısının oluşturulmasında 3D SWISS MODEL, nükleotid ve protein dizilerinin filogenetik ilişkileri, MEGAX 11 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda OmDXR genine ait tam uzunluktaki cDNA nükleotid uzunluğunun 1 700 baz çifti ve gene ait nükleotid dizisinin önceki çalışmalarda farklı türlerden elde edilen nükleotid dizileri ile %74.22-81.07, protein dizisinin ise %70.92-72.95 arasında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. OmTPS-1 genine ait tam uzunluktaki cDNA nükleotid uzunluğunun ise 1.836 baz çifti ve gene ait nükleotid dizisinin önceki çalışmalarda farklı türlerden elde edilen nükleotid dizileri ile %75.99-89.58, protein dizisinin ise %51.66-69.88 arasında benzerlik olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu çalışma *O. minutiflorum* türünde yapılan ilk moleküler temelli çalışma olmuştur. Dolayısıyla konu ile ilgili gelecekte yapılacak olan çalışmalar için bir kaynak özelliği taşıyacaktır.

Anahtar Kelimeler

DXR
Essential oil
Gene cloning
Origanum minutiflorum
Terpene synthase



Corresponding Author
civancelik@isparta.edu.tr

Introduction

Owing to its geographical location, Türkiye possesses a rich flora in terms of genetic diversity and endemism, and many plants hold a genetic center status. Türkiye's flora includes over 12,000 flowering plants, with more than 30% of them being medicinal and aromatic plants (Güner et al., 2012).

Origanum minutiflorum L., also known as “Sütçüler Thyme,” is an endemic species native to the Eastern Mediterranean and Southwestern Anatolia regions of Türkiye, especially in the provinces of Antalya and Isparta. It is a perennial plant with small, needle-like leaves. Its leaves are green, hairy along the edges, and oval in shape. The flowers are pink or purple and grow densely in clusters. The plant typically thrives in mountainous areas and dry soils. It has an essential oil yield ranging from 2% to 5%. It is rich in carvacrol, comprising around 40-80% of the volatile oil, along with 25% thymol, 13-8% terpinene, and 6% p-cymene (Oke and Aslım, 2010; Kılıçgün et al., 2014; Bozdemir, 2019). Numerous studies have been conducted on the volatile oil components and biological effects of *Origanum* species. This is because the volatile oils obtained from *Origanum* species are highly valuable and possess many biological and pharmacological properties, such as antifungal, antimicrobial, antioxidant, anticancer, and antidiabetic properties (Koutsoumanis et al., 1998; Skandamis and Nychas, 2000; Tsigarida et al., 2000; Dadalıoğlu and Evrendilek, 2004; Vardar-Ünlü et al., 2007; Bower et al., 2014; Fakir et al., 2016; Marchese et al., 2016; Soliman et al., 2016; Elmastas et al., 2018; Sevindik et al., 2023)

Terpenes (also known as terpenoids or isoprenoids), one of the gene families responsible for the synthesis of volatile oils and various chemical compounds in medicinal aromatic plants, participate in the synthesis of over 30,000 different structures with various carbon skeletons, including hundreds of different monoterpenes (C10), sesquiterpenes (C15), diterpenes (C20), and triterpenes (C30) (Buckingham, 1998; Degenhardt et al., 2010). To understand the structural features and functions of terpenes, numerous studies have been conducted on their isolation from different plant species (Yang et al. 2013; Din et al. 2014; Ashaari et al., 2020; Wang et al., 2020). Terpenes play significant roles in various fundamental plant processes, including growth, development, reproduction, and defense (Gershenzon and Kreis, 1999). However, despite the importance of these products in medicine, agriculture, and industry, there is not enough information available about the true role of most terpenes in nature (Gershenzon and Dudareva, 2007).

Therefore, in this study work, the isolation and characterization of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR) and terpene synthase 1 (TPS-1) genes, which play a role in the quality of essential oil in *O. minutiflorum*. Upon reviewing the literature, it was found that there had been no prior studies on gene cloning in *O. minutiflorum* (Sütçüler Thyme), which is an endemic species. In line with this general objective,

- Primers specific to the DXR and TPS1 genes isolated from different species were designed and synthesized.
- Rapid amplification of the 5' and 3' ends of the target genes with gene-specific primers and sequencing of these gene fragments were achieved.
- Full-length cDNA nucleotide sequences were determined by assembling the gene fragments.
- Nucleotide and amino acid sequences were analyzed using software programs. The nucleotide and amino acid sequences of the target genes were compared with homologs available in gene banks to analyze phylogenetic and molecular evolutionary relationships.

Endemic species are often restricted to specific geographical regions, which creates limitations in collecting plant material and conducting research. Most of these plant species have limited or no genomic information available, making gene identification and sequencing more challenging. The same applies to *O. minutiflorum*, as it is an endemic plant species. A review of the literature reveals that molecular studies

on this species are very limited. This study represents the first gene cloning research conducted on *O. minutiflorum*. Therefore, it serves as a valuable resource for future studies or breeding programs aimed at improving essential oil quality or yield after the domestication of this plant.

Material and Method

Plant material

In this study, young leaves of the plant "Sütçüler Thyme" (*O. minutiflorum*) were used as the plant material. Plant materials were collected from the Sütçüler district of the Isparta province (Figure 1), and after freezing with liquid nitrogen, they were stored at -80°C in the laboratory. Necessary permits for the collection of materials used in the study were obtained from TAGEM (General Directorate of Agricultural Research and Policies) and the Provincial Directorate of Agriculture and Forestry in Isparta.

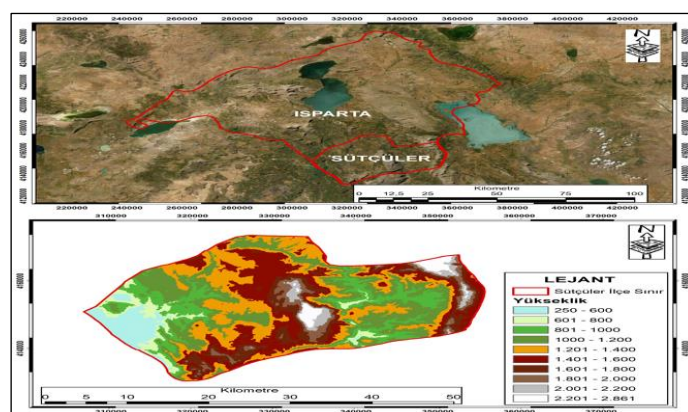


Figure 1. Coordinates where the plant materials used in the study were collected.

RNA extraction and cDNA synthesis

Total RNA was isolated according to the manufacturer's protocol using the RNeasy Plant Mini Kit (Catalog No: 74904). To eliminate potential DNA contamination, total RNA isolates were treated with DNase using a DNase treatment kit (Ambion) (Catalog No: AM2222). The quality of the isolated RNA samples was assessed using a nanodrop, and RNAs with purity values ranging from 1.98 to 2.00 were used.

Following DNase treatment, mRNA was converted to cDNA using the protocol provided for the "ProtoScript II First cDNA Synthesis" kit (Catalog no: E6560L). For the partial isolation of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR) and terpene synthase 1 genes (TPS1) cDNA, the synthesized thyme cDNA, as mentioned above, was subjected to PCR amplification using primers commonly used in different species (Crocoll, 2011; Majdi et al., 2017) (Table 1).

Table 1. Primers used in the study.

Gene Name	Primer Name	Forward and reverse primers	Primer Length	Tm (°C)	%GC
TPS1	Tps1-F	5'-TTCTCAAAGACCGCGGCATCAACACTATCCT-3'	31	68	48
	Tps1-R	5'-CTGCAGCCCCCGCCCCCTTGTC-3'	22	70	73
DXR	DXR-F	5'-GCCTTTTGTCTCCTCCTTTC-3'	21	60	52
	DXR-R	5'-TCCGCTCGATGCTGTGTCG-3'	19	61	63

PCR samples consisted of 5 μl cDNA, 2 μl degenerate primers, 5 μl 10X PCR buffer solution, 1 μl dNTP mix (10 μM), and 1 μl Taq polymerase, with the reaction volume completed to 50 μl with distilled water. The PCR steps used to generate partial cDNA with gene-specific primers for target genes are given in Table 2.

The PCR products were extracted from the agarose gel using the "Nucleo Trap" gel extraction kit (Clontech) (Catalog No: 740584), and the obtained pure DNAs were cloned using the "NEB[®] PCR Cloning Kit" (Catalog no: E1203S). Subsequently, chemical transformation was performed on Escherichia coli strain DH5 α competent cells according to the established procedure. The recombinant plasmids were verified

using “Monarch® Plasmid Miniprep” (Catalog no: T1010S) kit, and the positive DNA clones were subjected to sequencing using the dideoxy method with an ABI3730 automated sequencer (Lontek Company, Türkiye).

Table 2. PCR stages used to generate partial cDNA with gene-specific primers for target genes

Step	Phase	Time	Heat	Cycle
I. Step	Denaturation	1.5 min	95°C	5
	Annealing	2 min	57°C	
	Extension	1 min	72°C	
II. Step	Denaturation	30 sec	95°C	15
	Annealing	1 min	57°C	
	Extension	30 sec	72°C	
III. Step	Denaturation	30 sec	95°C	20
	Annealing	1 min	57°C	
	Extension	2 min	72°C	
7 min 72°C final extension				

Amplification of DXR and TPS-1 genes using RACE sequencing and gene cloning

For RACE Ready cDNA synthesis, the protocol of the "SMARTer® RACE 3'5' amplification kit (Takara (Catalog no: 634859))" was used. For 5'-RACE cDNA, 3.0 µL of DNase-treated RNA sample, 1 µL of 5'-CDS primer A, and 7.0 µL of sterile H₂O were mixed in separate tubes. For 3'-RACE cDNA, 3.0 µL of RNA sample, 1 µL of 3'-CDS primer A, and 7.0 µL of sterile H₂O were mixed in separate tubes. To obtain the entire coding regions of the target genes, 3'- and 5'-RACE Ready cDNA samples and the protocol of the "SMARTer® RACE 5'/3'" amplification kit (Takara, Catalog no: 634859) were used. Next, PCR was conducted as follows: 6 cycles of 30 s at 95°C followed by 60 s at 72°C, 6 cycles of 30 s at 95°C, 30 s at 68°C, and 1 min at 72°C; 25 cycles of 30 s at 95°C, 30 s at 66°C, and 120 s at 72°C. The amplification products were run on an agarose gel containing 1 tris/borate/ EDTA buffer solution. PCR products were extracted from the gel and cloned into TOPO-TA cloning vectors, and the recombinant plasmids were sequenced (Lontek Company, Turkey).

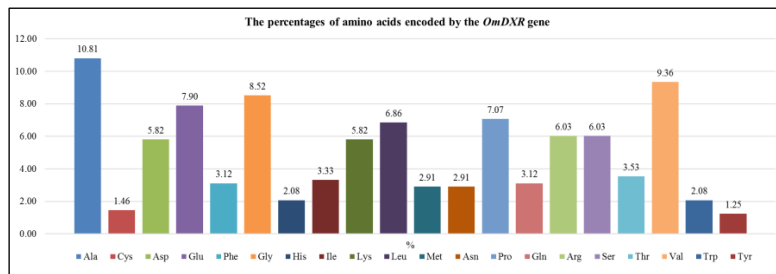
Bioinformatics analyses

The nucleic acid fragments obtained in this study were sequenced by Lontek Company. Nucleotide sequencing was performed using the enzymatic Sanger's dideoxy method. These sequences were compared with gene sequences obtained from other species and available in the NCBI database using the BLAST program (BLASTn and BLASTp) (Altschul et al. 1997). To convert nucleotide sequences into protein sequences, ExpASY was employed. In sequence analysis, ExpASY Tools were used, and for constructing the three-dimensional structure of the protein, the 3D SWISS MODEL program was used. The phylogenetic relationships between nucleotide and protein sequences and sequences of previously isolated species from the gene bank were established using the MEGA 11 software package (Tamura et al., 2021). The open reading frame (ORF) of the obtained gene was determined using the "ORF Finder" database.

Results and Discussion

The full-length cDNA nucleotide length of the *OmDXR* gene (GenBank Accession No: OR652277) was determined to be 1,700 base pairs (bp). Of the 1,700-bp-long gene, 138 bp corresponded to the 5'-UTR and 116 bp corresponded to the 3'-UTR regions. The amino acid sequence of *OmDXR* was analyzed using the ExpASY Tools database. It has been determined that the ORF region of *OmDXR* encodes a protein that is 481 amino acids in length. In this study, secondary structure predictions of the amino acid sequence were analyzed using the Predict Protein database. According to structural classification analysis, the secondary structure composition of the chain was calculated as follows: helix 41.79%, strand 10.39%, and coil 47.81%. Because of the bioinformatics analysis, the molecular weight of the *OmDXR* protein was calculated to be 52.36 kDa, and the theoretical isoelectric point (PI) was determined to be 5.71. The GRAVY (Grand average of hydropathicity index) value for the protein synthesized by the *OmDXR* gene was calculated as -0.334. Kyte and Doolittle (1982) reported that a protein with a GRAVY value of less than zero is hydrophilic. Therefore, it is possible to say that the protein synthesized by the *OmDXR* gene exhibits a

hydrophilic character. The amino acid counts and their percentages encoded by *OmDXR* are presented in Figure 2. According to this, it was determined that the alanine (Ala) amino acid had the highest occurrence in the amino acid sequence with a percentage of 10.81%. This was followed by Valine (Val) with 9.36% and Glycine (Gly) with 8.52%. The least abundant amino acids were Tyrosine (Tyr) with 1.25% and Cysteine (Cys) with 1.46%. In addition, the conserved motifs and phosphorylation regions of the *OmDXR* protein were identified. The MEME program was used to determine the motifs, and phosphorylation regions were identified based on a score of 0.8 or higher using NetPhos 3.1. Three conserved motifs were identified in the *OmDXR* protein sequences. It was found that the most abundant phosphorylation region contained serine residues. Helices: Structures formed by a specific arrangement of a sequence of amino acids in the primary structure of a protein. They come in different types, such as alpha-helices and beta-helices. An alpha-helix is a structure in which the polypeptide chain is coiled in a spiral. Straight Chain: A section of the protein's primary structure where consecutive amino acids are linked together in a straight line. There is no specific structural folding in this region. Coil: A part of the protein's secondary structure. It is a region where the straight chain is loosely coiled and the polypeptide chain is folded into a more compact three-dimensional structure (Zhu et al., 1993). Therefore, it is possible to say that the predicted three-dimensional structure of the *OmDXR* protein generated using the SWISS-MODEL interface is in the form of an alpha-helix (Figure 3).



Ala: Alanine, Arg: Arginine, Asn: Asparagine, Asp: Aspartic Acid, Cys: Cysteine, Glu: Glutamic Acid, Gln: Glutamine, Gly: Glycine, His: Histidine, Ile: Isoleucine, Leu: Leucine, Lys: Lysine, Met: Methionine, Phe: Phenylalanine, Pro: Proline, Ser: Serine, Thr: Threonine, Trp: Tryptophan, Tyr: Tyrosine, Val: Valine

Figure 2. Percentage of amino acids encoded by the *OmDXR* gene.

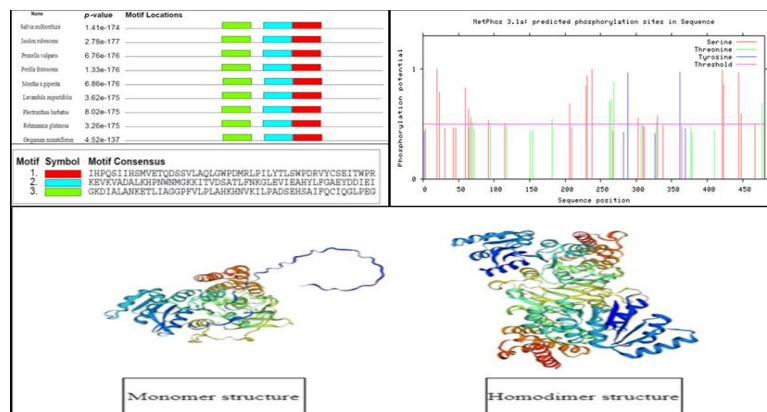


Figure 3. Conserved motifs of the *OmDXR* protein, putative phosphorylation sites of *OmDXR* proteins, and 3D structure of the *OmDXR* protein

The relationship between the nucleotide sequence obtained from *OmDXR* and previously identified DXR sequences in the NCBI database was investigated (Figure 4). The MEGAX 11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) program was used to establish this relationship. The *OmDXR* nucleotide sequence was compared with sequences of 10 different plant species with similar nucleotide sequences using BLASTn analysis in the NCBI database (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Similarities were determined using the Bootstrap 1000 and neighbor-joining methods (Felsenstein, 1985). The constructed dendrogram was divided into two main groups (I and II), and the second main group (II) was further subdivided into

subgroups. The highest similarity was observed between *Salvia miltiorrhiza* (DXR) and *S. splendens* (DXR). The *OmDXR* gene was found to belong to the second main group (II).

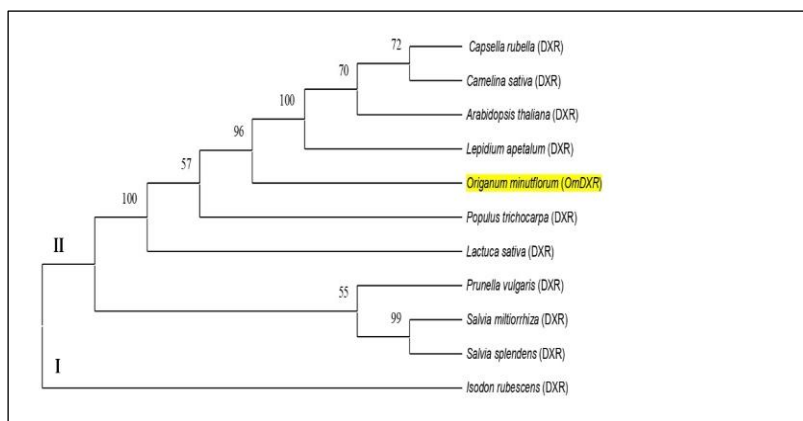
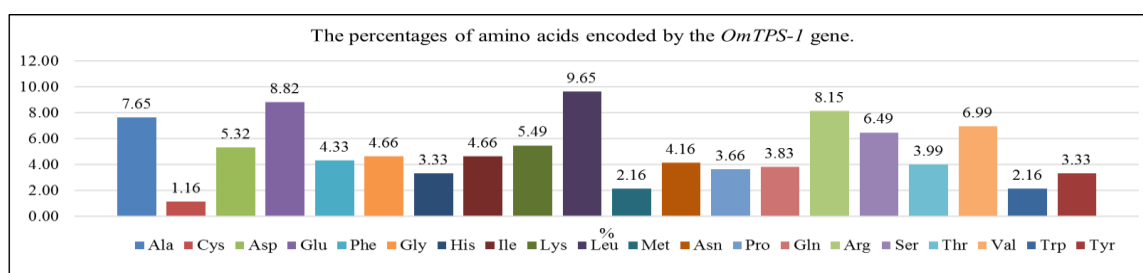


Figure 4. Phylogenetic relationship of the *OmDXR* nucleotide sequence

The full-length cDNA nucleotide sequence of the *OmTPS-1* gene (GenBank Accession No: OR652278) was determined to be 1.836 base pairs (bp). Of the 1.836-bp length of the gene, 1.806 bp comprise the ORF region of the gene. The remaining 7 bp (highlighted in blue) constitute the poly(A) tail. The amino acid sequence of *OmTPS-1* was analyzed using the ExPASy Tools database. It was determined that the *OmTPS-1* gene's ORF region encodes a protein that is 601 amino acids long. In this study, secondary structure predictions of the *OmTPS-1* amino acid sequence were analyzed using the "Predict Protein" database. According to the structural classification analysis of *OmTPS-1*, the secondary structure composition of the chain was calculated as follows: helix 65.56%, extended strand 0.33%, and coil 34.61%. Because of the bioinformatics analysis, the molecular weight of the *OmTPS-1* protein was calculated to be 69.64 kDa, and its theoretical isoelectric point (PI) was determined to be 6.72. The GRAVY (Grand average of hydropathicity index) value for the protein synthesized by the *OmTPS-1* gene was calculated to be -0.482. It was found that similar to the *OmDXR* protein, the protein synthesized by the *OmTPS-1* gene also has a hydrophilic character. The amino acid sequence of *OmTPS-1* and the corresponding amino acid counts and percentages are shown in Figure 5. According to this analysis, the amino acid Leucine (Leu) has the highest occurrence in the sequence, accounting for 9.65% of the total amino acids. This was followed by Glutamine (Gln) at 8.82% and Arginine (Arg) at 8.15%. The least abundant amino acids in the sequence are Cysteine (Cys) at 1.16% and Tryptophan (Trp) and Methionine (Met) at 2.16%. In addition, the conserved motifs and phosphorylation regions of the *OmTPS-1* protein were identified. The MEME program was used to determine the motifs, and phosphorylation regions were identified based on a score of 0.8 or higher using the NetPhos 3.1 program. Three conserved motifs were identified in the *OmTPS-1* protein sequences. It was found that the most abundant phosphorylation region contained serine residues. The predicted 3D structure of the *OmTPS-1* protein, generated using the SWISS-MODEL interface, was determined to exhibit an alpha-helix conformation (Figure 6).



Ala: Alanine, Arg: Arginine, Asn: Asparagine, Asp: Aspartic Acid, Cys: Cysteine, Glu: Glutamic Acid, Gln: Glutamine, Gly: Glycine, His: Histidine, Ile: Isoleucine, Leu: Leucine, Lys: Lysine, Met: Methionine, Phe: Phenylalanine, Pro: Proline, Ser: Serine, Thr: Threonine, Trp: Tryptophan, Tyr: Tyrosine, Val: Valine

Figure 5. Percentage of amino acids encoded by the *OmTPS-1* gene.

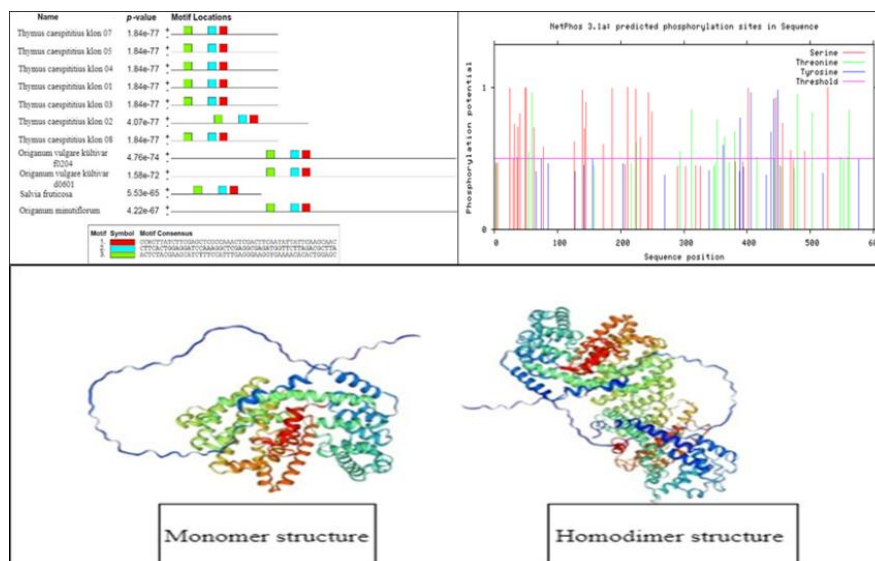


Figure 6. Conserved motifs of *OmTPS-1* protein, putative phosphorylation sites of *OmTPS-1* proteins, and 3D structure of *OmTPS-1* protein

The relationship between the nucleotide sequence of *OmTPS-1* and previously identified TPS1 sequences in the NCBI database was also investigated (Figure 7). The establishment of this relationship used the MEGAX.11 program. The *OmTPS-1* nucleotide sequence was subjected to BLASTn analysis in the NCBI database to identify 10 different plant species with similar nucleotide sequences. Similarities were determined using the Bootstrap 1000 and neighbor-joining methods. The generated dendrogram was divided into two main groups (I and II), with the second main group (II) further subdivided into subgroups. The highest similarity was observed in the *O. vulgare* cultivar f0204 - *O. vulgare* cultivar d0601 and *Thymus caespitius* clone 01 - *T. caespitius* clone 02 species. It was found that the *OmTPS-1* nucleotide sequence exhibited high similarity with the TPS nucleotide sequence isolated from *O. vulgare* species and that both belonged to the same main group within the same subgroup.

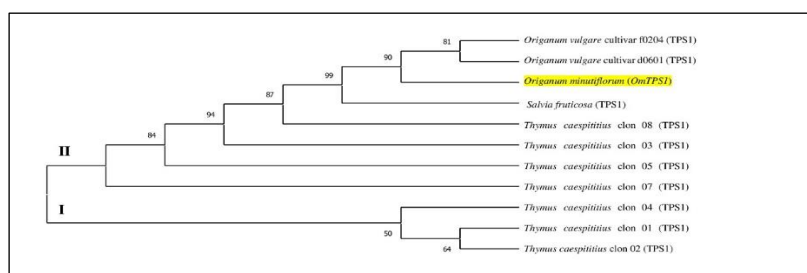


Figure 7. Phylogenetic relationship of the *OmTPS-1* nucleotide sequence

Terpene synthase genes in aromatic plants encode enzymes responsible for the synthesis of plant essential oils (Bayrak 2006). Therefore, terpene synthases play a crucial role in the synthesis of volatile oils (Tholl, 2006). Terpene synthases are categorized into several classes. One of these is the first-class terpene synthases, which are classified as mono-, sesqui-, and diterpene synthases based on their substrates geranyl diphosphate, farnesyl diphosphate, and geranylgeranyl diphosphate, respectively. Terpene synthase 1 (TPS-1) is a type of sesquiterpene and is an enzyme involved in terpene synthesis in plants (Schnee et al. 2002). A enzyme contributing to isoprenoid synthesis is 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase (DXR), which converts 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate to 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate. DXR genes have been isolated and characterized in *E. coli* (Takahashi et al., 1998; Kuzuyama et al. 2000; Radykewicz et al. 2000), *Eubacterium* (Jomaa et al. 1999; Grolle et al. 2000), and several plant species (Lange and Croteau 1999; Schwender et al. 1999; Veau et al. 2000; Rodriguez-Concepcion et al. 2001; Kim et al. 2006). However, no previous study has investigated the isolation of the DXR gene in *O.*

minutiflorum species. Based on this information, homologs of previously characterized DXR and TPS1 genes from different plant species were cloned into *O. minutiflorum*, and their full-length DNA sequences were determined. In addition, these characterized genes were compared with their homologs in the literature. Yao et al. (2008) reported that the full-length cDNA of *CaDXR* isolated from *Camptotheca acuminata* is 1.823 base pairs (bp) in length, encoding a 472 amino acid polypeptide with a molecular weight of 56 kDa and an isoelectric point (PI) of 6.58. Gong et al. (2005) isolated *GbDXR* from *Ginkgo biloba* and found that its full-length cDNA is 1.720 bp, encoding a 477 amino acid protein with a molecular weight of 52 kDa and a PI of 6.58. Similarly, Engprasert et al. (2005) isolated a DXR gene from *Coleus forskohlii*, and its full-length cDNA was found to be 1.407 bp, encoding a 469 amino acid protein with an estimated molecular weight of 50.8 kDa. Wu et al. (2009) reported that *SmdXR* isolated from *Salvia miltiorrhiza* has a full-length sequence of 1.756 bp and encodes a 474-amino acid protein with a molecular weight of 51.859 kDa. Gupta et al. (2013) isolated *WsDXR* from *W. somnifera*, which has a full-length cDNA of 1.428 bp, encoding a 475 amino acid protein. Liu et al. (2015) isolated *AsDXR* from *Aquilaria sinensis*, and its full-length sequence is 1.768 bp, encoding a 478 amino acid protein with a molecular weight of 51.859 kDa. Tong et al. (2015) isolated a DXR gene from *Tripterygium wilfordii*, and its full-length sequence is 1.816 bp, encoding a 496-amino acid protein. Cheng et al. (2019) isolated *DzDXR* from *Dioscorea zingiberensis*, which has a full-length cDNA of 1.643 bp, encoding a 470 amino acid protein. Kwon et al. (2003) reported the full-length cDNA of *ZrTPS1* from *Zygosaccharomyces rouxii*, which encodes a 492-amino acid protein with a molecular weight of 56 kDa. Kim et al. (2008) isolated *PgTPS* from *Panax ginseng*, with a 1.883-bp cDNA encoding a 568-amino acid protein. Crocoll et al. (2010) isolated multiple TPS genes from *O. vulgare*, ranging from 1.659 to 1.803 bp in length. Li and Fan (2011) reported *HcTPS2* from *Hedychium coronarium* with a 1.788-bp cDNA encoding a 596-amino acid protein. Hsu et al. (2012) isolated *TsTPS1* and *TsTPS2* from *Toona sinensis*, with lengths of 1.788 and 1.671 bp, encoding 595 and 556 amino acid proteins, respectively. Vezzano et al. (2012) reported *OeTPS1* from *Olea europaea*, with a 1.749-bp cDNA encoding a 583-amino acid protein. Lima et al. (2013) isolated *TcTPS2* from *T. caespitius*, with a 2.308-bp cDNA encoding a 598-amino acid protein. Nawade et al. (2019) reported *PdTPS1* from *Prunus dulcis* with a 1.671-bp cDNA encoding a 557-amino acid protein. Xie et al. (2020) conducted the cloning and analysis of the DXR gene in *Morinda officinalis*. The researchers determined through sequence comparisons using BlastP in the NCBI database that *MoDXR* exhibited high sequence similarity with several other DXR genes, such as *Coffea arabica* DXR (*CaDXR*) and *Rauvolfia verticillata* DXR (*RvDXR*). Wu et al. (2009) conducted the cloning and characterization of the DXR gene in *Salvia miltiorrhiza*. They reported that the amino acid sequence of the gene, which they named *SmdXR*, exhibited 94% homology with *Mentha × piperita*, 82% with *Oryza sativa*, and 80% with *Arabidopsis thaliana*. Yan et al. (2009) determined the molecular characterization of the DXR gene in *Salvia miltiorrhiza*. Bioinformatics analyses revealed that DXR showed homology with DXR genes isolated from other plant species. Phylogenetic analyses indicated that the DXR gene isolated from *S. miltiorrhiza* is most closely related to the DXR gene isolated from *Lycopersicon esculentum*. Seetang-Nun et al. (2008) conducted the molecular cloning and characterization of the DXR1 and DXR2 genes from *Hevea brasiliensis*. They found that the genes, which they named *HbDXR1* and *HbDXR2*, showed 73%-87% similarity to DXR genes isolated from other plant species. Kim et al. (2008) aimed to isolate and characterize the terpene synthase gene from *Panax ginseng*. They reported that the amino acid sequence of the gene, named *PgTPS*, showed 61% similarity with *Actinidia deliciosa* (AAX16121), 61% with *Vitis vinifera* (AAS66357), 55% with *Linepithema hirsutum* (AAG41891), and 52% with *Medicago truncatula* (AAV36464). Li and Fan (2011) isolated the *HcTPS2* gene responsible for fragrance formation in *Hedychium coronarium*. The researchers reported that the amino acid sequence obtained from this gene showed 35%-38% similarity with known monoterpene synthase genes in other species. Vezzano et al. (2012) conducted the isolation and characterization of terpene synthase genes involved in taste development during the ripening of *Olea europaea* L. fruits. The researchers found that the *OeTPS1* gene showed 68% sequence similarity with *Phyla dulcis* (ADK62524), 62% with the geraniol synthase gene from *Ocimum basilicum* (AAR11765), and 58% with the R-linalool synthase gene isolated from *O. basilicum* (Q5SBP3). Abbas et al. (2019) conducted the functional characterization and expression analysis of two terpene synthase (TPS) genes

(*LoTPS1* and *LoTPS3*) responsible for fragrance formation in *Lilium 'Siberia'* flowers. The researchers reported that the amino acid sequence of *LoTPS1* showed 45.88% similarity with TPS4 isolated from *Populus trichocarpa*, while *LoTPS3* exhibited a high similarity of 40.85% with S-(+)-linalool synthase from *Cinnamomum osmophloeum*. They also found that *LoTPS1* and *LoTPS3* showed 27.41% similarity with each other. In our study, the full-length cDNA of *OmDXR* was determined to be 1.700 bp, with a 138-bp 5'-UTR, a 116-bp 3'-UTR, and a 1.446-bp ORF encoding a 481-amino acid protein. Sequence comparisons with previous studies revealed similarity ranging from 74.22% to 81.07% at the nucleotide level and from 70.92% to 72.95% at the protein level. Additionally, the full-length cDNA of *OmTPS-1* was determined to be 1.836 bp, with a 1.806-bp ORF encoding a 601-amino acid protein. Sequence comparisons with previous studies revealed similarity ranging from 75.99% to 89.58% at the nucleotide level and from 51.66% to 69.88% at the protein level.

Conclusion

In conclusion, in this study, the nucleotide sequences of *OmDXR* and *OmTPS-1* genes, which are involved in the synthesis of essential oils in the endemic species *O. minutiflorum*, were successfully characterized and compared with homologs. The importance of the DXR and TPS genes examined in this study lies in its critical role in volatile oil formation, and the fact that it has not been previously studied in *O. minutiflorum* makes our research significant. Therefore, we believe that the information obtained from this study will be valuable for future studies aimed at improving the quality of this species when it is professionally cultivated after being harvested from the wild.

Acknowledgment

This study was supported by the "Isparta University of Applied Sciences, Scientific Research Projects Coordination Unit" with the number 2021-D1-0150. We would like to thank the Isparta University of Applied Sciences, Scientific Research Projects Coordination Unit.

Author Contributions

The authors equally contributed to the preparation of this paper.

Conflict of Interest

As the authors of this study, we declare that we do not have any conflict of interest statement.

Ethics Committee Approval

As the authors of this study, we declare that we do not have any ethics committee approval.

References

- Abbas, F., Ke, Y., Yu, R., & Fan, Y. (2019). Functional characterization and expression analysis of two terpene synthases involved in floral scent formation in *Lilium 'Siberia'*. *Planta*, 249, 71-93. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-3006-7>.
- Ashaari, N. S., Ab. Rahim, M. H., Sabri, S., Lai, K. S., Song, A. A. L., Abdul Rahim, R., & Ong Abdullah, J. (2020). Functional characterization of a new terpene synthase from *Plectranthus amboinicus*. *PLoS One*, 15(7), e0235416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235416>.
- Bayrak, A. (2006). Gıda Aromaları. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.
- Bower, A. M., Real Hernandez, L. M., Berhow, M. A., & De Mejia, E. G. (2014). Bioactive compounds from culinary herbs inhibit a molecular target for type 2 diabetes management, dipeptidyl peptidase IV. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(26), 6147-6158. <https://doi.org/10.1021/jf500639f>.
- Bozdemir, Ç. (2019). Economic importance and usage fields of oregano species growing in Turkey. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 29(3), 583-594. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.511777>.

- Buckingham, J. (1998). Dictionary of Natural Products. Chapman and Hall, London
- Cheng, Z., Wang, R., Shen, J., Yang, Z., & Chen, Y. (2019). Cloning, characterization, and expression of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase gene from *Dioscorea zingiberensis*. *Biologia Plantarum*, 63(1), 262-267. <https://doi.org/10.32615/bp.2019.030>.
- Crocoll, C., Asbach, J., Novak, J., Gershenzon, J., & Degenhardt, J. (2011). Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis. *Plant Molecular Biology*, 73, 587-603. <https://doi.org/10.1007/s11103-010-9636-1>.
- Dadalıoglu, I., & Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8255-8260. <https://doi.org/10.1021/jf049033e>.
- Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J. (2010). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1621-1637. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.030>.
- Din, M., & Barozai, M. Y. K. (2014). Profiling microRNAs and their targets in an important fleshy fruit: Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Gene*, 535(2), 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.11.034>.
- Elmastas, M., Celik, S. M., Genc, N., Aksit, H., Erenler, R., & Gulcin, İ. (2018). Antioxidant activity of an Anatolian herbal tea *Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 374-384. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1416399>.
- Engprasert, S., Taura, F., & Shoyama, Y. (2005). Molecular cloning, expression and characterization of recombinant 1-deoxy-d-xylulose-5-phosphate reductoisomerase from *Coleus forskohlii* Briq. *Plant Science*, 169(2), 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.017>.
- Fakir, H., Korkmaz, M., & Icel, B. (2016). Medicinal plants traditionally used for pain alleviation in Antalya province, Türkiye. *Studies on Ethno-Medicine*, 10(3), 314-324. <https://doi.org/10.1080/09735070.2016.11905503>.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791.
- Gershenzon, J., & Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology*, 3(7), 408-414.
- Gershenzon, J., & Kreis, W. (1999). Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, 2, 222-299.
- Gong, Y., Liao, Z., Chen, M., Zuo, K., Guo, L., Tan, Q., Huang, Z., Kai, G., Sun, X., Tan, F., & Tang, K. (2005). Molecular cloning and characterization of a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase gene from *Ginkgo biloba*. *DNA Sequence*, 16(2), 111-120. <https://doi.org/10.1080/10425170500058869>.
- Grolle, S., Bringer-Meyer, S., & Sahm, H. (2000). Isolation of the dxr gene of *Zymomonas mobilis* and characterization of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase. *FEMS Microbiology Letters*, 191(1), 131-137. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09329.x>.
- Gupta, P., Agarwal, A. V., Akhtar, N., Sangwan, R. S., Singh, S. P., & Trivedi, P. K. (2013). Cloning and characterization of 2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate pathway genes for isoprenoid biosynthesis from Indian ginseng, *Withania somnifera*. *Protoplasma*, 250, 285-295. <https://doi.org/10.1007/s00709-012-0410-x>.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babaç, M. T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalı Derneği Yayınları.
- Hsu, C. Y., Huang, P. L., Chen, C. M., Mao, C. T., & Chaw, S. M. (2012). Tangy scent in *Toona sinensis* (Meliaceae) leaflets: isolation, functional characterization, and regulation of TsTPS1 and TsTPS2, two key terpene synthase genes in the biosynthesis of the scent compound. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(15), 2721-2732. <https://doi.org/10.2174/138920112804724864>.

- Jomaa, H., Wiesner, J., Sanderbrand, S., Altincicek, B., Weidemeyer, C., Hintz, M., & Beck, E. (1999). Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. *Science*, 285(5433), 1573-1576. <https://doi.org/10.1126/science.285.5433.1573>.
- Kılıçgün, H., Korkmaz, M., & Kılıçgün, H. (2014). Hepatoprotective and antidiabetic activity of *Origanum minutiflorum* grown wild in Türkiye. *Bothalia Journal*, 44(3), 260-267.
- Kim, S. M., Kuzuyama, T., Chang, Y. J., Song, K. S., & Kim, S. U. (2006). Identification of class 2 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase and 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase genes from *Ginkgo biloba* and their transcription in embryo culture with respect to ginkgolide biosynthesis. *Planta Medica*, 72(03), 234-240. <https://doi.org/10.1055/s-2005-916180>.
- Kim, Y. J., Ham, A. R., Shim, J. S., Lee, J. H., Jung, D. Y., In, J. G., & Yang, D. C. (2008). Isolation and characterization of terpene synthase gene from *Panax ginseng*. *Journal of Ginseng Research*, 32(2), 114-119.
- Koutsoumanis, K., Tassou, C. C., Taoukis, P. S., & Nychas, G. J. E. (1998). Modelling the effectiveness of a natural antimicrobial on *Salmonella enteritidis* as a function of concentration, temperature and pH, using conductance measurements. *Journal of Applied Microbiology*, 84(6), 981-987. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00433.x>.
- Kuzuyama, T., Takahashi, S., Takagi, M., & Seto, H. (2000). Characterization of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase, an enzyme involved in isopentenyl diphosphate biosynthesis, and identification of its catalytic amino acid residues. *Journal of Biological Chemistry*, 275(26), 19928-19932. <https://doi.org/10.1074/jbc.M001820200>.
- Kwon, H. B., Yeo, E. T., Hahn, S. E., Bae, S. C., Kim, D. Y., & Byun, M. O. (2003). Cloning and characterization of genes encoding trehalose-6-phosphate synthase (TPS1) and trehalose-6-phosphate phosphatase (TPS2) from *Zygosaccharomyces rouxii*. *FEMS Yeast Research*, 3(4), 433-440. [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(03\)00035-7](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(03)00035-7).
- Kyte, J., & Doolittle, R. F. (1982). A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *Journal of Molecular Biology*, 157(1), 105-132. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90515-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90515-0).
- Lange, B. M., & Croteau, R. (1999). Isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway in plants: cloning and heterologous expression of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase from peppermint. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 365(1), 170-174. <https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1168>.
- Li, R., & Fan, Y. (2011). Molecular cloning and expression analysis of a terpene synthase gene, HcTPS2, in *Hedychium coronarium*. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29, 35-42. <https://doi.org/10.1007/s11105-010-0205-1>.
- Lima, A. S., Schimmel, J., Lukas, B., Novak, J., Barroso, J. G., Figueiredo, A. C., & Trindade, H. (2013). Genomic characterization, molecular cloning and expression analysis of two terpene synthases from *Thymus caespitius* (Lamiaceae). *Planta*, 238, 191-204. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1884-2>.
- Liu, J., Xu, Y., Liang, L., & Wei, J. (2015). Molecular cloning, characterization and expression analysis of the gene encoding 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase from *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. *Journal of Genetics*, 94, 239-249.
- Majdi, M., Malekzadeh-Mashhady, A., Maroufi, A., & Crocoll, C. (2017). Tissuespecific gene-expression patterns of genes associated with thymol/carvacrol biosynthesis in thyme (*Thymus vulgaris* L.) and their differential changes upon treatment with abiotic elicitors. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 152-162. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.03.016>.
- Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chemistry*, 210, 402-414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>.
- Nawade, B., Yahyaa, M., Reuveny, H., Shaltiel-Harpaz, L., Eisenbach, O., Faigenboim, A., & Ibdah, M. (2019). Profiling of volatile terpenes from almond (*Prunus dulcis*) young fruits and characterization of seven

- terpene synthase genes. *Plant Science*, 287, 110187. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110187>.
- Oke, F., & Aslim, B. (2010). Biological potentials and cytotoxicity of various extracts from endemic *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & PH Davis. *Food And Chemical Toxicology*, 48(6), 1728-1733. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.053>.
- Radykewicz, T., Rohdich, F., Wungsintaweekul, J., Herz, S., Kis, K., Eisenreich, W., & Arigoni, D. (2000). Biosynthesis of terpenoids: 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase from *Escherichia coli* is a class B dehydrogenase. *FEBS Letters*, 465(2-3), 157-160. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)01743-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)01743-3).
- Rodriguez-Concepción, M., Ahumada, I., Diez-Juez, E., Sauret-Güeto, S., Lois, L. M., Gallego, F., & Boronat, A. (2001). 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate reductoisomerase and plastid isoprenoid biosynthesis during tomato fruit ripening. *The Plant Journal*, 27(3), 213-222. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2001.01089.x>.
- Schnee, C., Köllner, T. G., Gershenzon, J., & Degenhardt, J. (2002). The maize gene terpene synthase 1 encodes a sesquiterpene synthase catalyzing the formation of (E)- β -farnesene, (E)-nerolidol, and (E, E)-farnesol after herbivore damage. *Plant Physiology*, 130(4), 2049-2060. <https://doi.org/10.1104/pp.008326>.
- Schwender, J., Müller, C., Zeidler, J., & Lichtenthaler, H. K. (1999). Cloning and heterologous expression of a cDNA encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase of *Arabidopsis thaliana* 1. *FEBS Letters*, 455(1-2), 140-144. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00849-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00849-2).
- Seetang-Nun, Y., Sharkey, T. D., & Suvachittanont, W. (2008). Molecular cloning and characterization of two cDNAs encoding 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate reductoisomerase from *Hevea brasiliensis*. *Journal of Plant Physiology*, 165(9), 991-1002. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.014>.
- Sevindik, E., Karakoyun, D., Güldere, İ. M., Borhan, F., Apaydin, E., & Kabil, E. (2023). Chemical composition of *Vitex agnus-castus* L. flowers collected from populations distributed in Aydin, Türkiye. *Notulae Scientia Biologicae*, 15(1), 11377-11377. <https://doi.org/10.55779/nsb15111377>
- Skandamis, P. N., & Nychas, G. J. E. (2000). Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157: H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1646-1653. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1646-1653.2000>.
- Soliman, A. M., Desouky, S., Marzouk, M., & Sayed, A. A. (2016). *Origanum majorana* attenuates nephrotoxicity of cisplatin anticancer drug through ameliorating oxidative stress. *Nutrients*, 8(5), 264. <https://doi.org/10.3390/nu8050264>.
- Takahashi, S., Kuzuyama, T., Watanabe, H., & Seto, H. (1998). A 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase catalyzing the formation of 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate in an alternative nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 9879-9884. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.17.9879>.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 297-304. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.014>.
- Tong, Y., Su, P., Zhao, Y., Zhang, M., Wang, X., Liu, Y., & Huang, L. (2015). Molecular cloning and characterization of DXS and DXR genes in the terpenoid biosynthetic pathway of *Tripterygium wilfordii*. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 25516-25535. <https://doi.org/10.3390/ijms161025516>.
- Tsugarida, E., Skandamis, P., & Nychas, G. J. (2000). Behaviour of *Listeria monocytogenes* genes and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C. *Journal of Applied Microbiology*, 89(6), 901-909. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01170.x>.

- Vardar-Ünlü, G., Ünlü, M., Dönmez, E., & Vural, N. (2007). Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(2), 255-259. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2708>.
- Veau, B., Courtois, M., Oudin, A., Chénieux, J. C., Rideau, M., & Clastre, M. (2000). Cloning and expression of cDNAs encoding two enzymes of the MEP pathway in *Catharanthus roseus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1517(1), 159-163. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(00\)00240-2](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(00)00240-2).
- Vezzaro, A., Krause, S. T., Nonis, A., Ramina, A., Degenhardt, J., & Ruperti, B. (2012). Isolation and characterization of terpene synthases potentially involved in flavor development of ripening olive (*Olea europaea*) fruits. *Journal of Plant Physiology*, 169(9), 908-914. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.01.021>.
- Wang, P. Y., Ni, R., Zhu, T. T., Sun, C. J., Lou, H. X., Zhang, X., & Cheng, A. X. (2020). Isolation and functional characterization of four microbial type terpene synthases from ferns. *Plant Physiology and Biochemistry*, 155, 716-724. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.037>.
- Wu, S. J., Shi, M., & Wu, J. Y. (2009). Cloning and characterization of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase gene for diterpenoid tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* (Chinese sage) hairy roots. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 52(1), 89-95. <https://doi.org/10.1042/BA20080004>.
- Xie, D. J., Ye, Y. J., Yang, D. M., Zhang, Y. X., He, T. Y., Chen, L. G., & Zheng, Y. S. (2020). Cloning and analysis of the DXR gene and its promoter in *Morinda officinalis*. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 12, 335-344. <https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2019-0707>.
- Yan, X., Zhang, L., Wang, J., Liao, P., Zhang, Y., Zhang, R., & Kai, G. (2009). Molecular characterization and expression of 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR) gene from *Salvia miltiorrhiza*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 1015-1022. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0320-5>.
- Yang, C. Q., Wu, X. M., Ruan, J. X., Hu, W. L., Mao, Y. B., Chen, X. Y., & Wang, L. J. (2013). Isolation and characterization of terpene synthases in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Phytochemistry*, 96, 46-56. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.09.009>.
- Yao, H., Gong, Y., Zuo, K., Ling, H., Qiu, C., Zhang, F., & Tang, K. (2008). Molecular cloning, expression profiling and functional analysis of a DXR gene encoding 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate reductoisomerase from *Camptotheca acuminata*. *Journal of Plant Physiology*, 165(2), 203-213. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.12.001>.
- Zhu, B. Y., Zhou, M. E., Kay, C. M., & Hodges, R. S. (1993). Packing and hydrophobicity effects on protein folding and stability: Effects of β -branched amino acids, valine and isoleucine, on the formation and stability of two-stranded α -helical coiled coils/leucine zippers. *Protein Science*, 2(3), 383-394. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020310>.

Patates Patojenleri *Fusarium sambucinum* ve *Rhizoctonia solani*'ye Karşı Bazı Uçucu Yağların Kullanım Olanaklarının Araştırılması

Şerife Evrim ARICI¹  Arif ŞANLI²  Raziye Dilara ÇAPA¹ 

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

² Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Öz

Bu çalışmada patateslerde çürüklüklere neden olan *Fusarium sambucinum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı 4 ayrı bitkiden (Adaçayı, Biberiye, Tarçın ve Kekik) elde edilen uçucu yağın kontakt ve buhar fazında antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Her yağın kontakt etkili denemelerinde 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 4000 $\mu\text{L/L}$, buhar fazı denemelerinde ise 3, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μL /petri dozları kullanılmıştır. *In vitro* çalışmalarında bütün yağlar fungusların misel gelişimini engellemesine rağmen, en etkili tarçın ve kekik uçucu yağları tespit edilmiştir. Kontakt faz uygulamasında kekik yağının 100 $\mu\text{L/L}$ dozu her iki fungusun misel gelişimini %100 engellerken, tarçın yağı *R. solani* için 200 $\mu\text{L/L}$, *F. sambucinum* için 300 $\mu\text{L/L}$ dozlarında misel gelişimini %100 engellemiştir. Buhar fazında ise *R. solani* için tarçın yağı 25 μL /petri, kekik yağı ise 6.25 μL /petri dozu, *F. sambucinum* için her iki yağın 12.5 μL /petri dozu fungusların misel gelişimlerini %100 engellemiştir. Patates yumrularında kekik ve tarçın yağının kontakt olarak uygulanmasında her iki fungusun misel gelişimi tamamen baskılanırken, buhar fazında kekik yağı daha iyi etkinlik göstermiştir. Kekik yağında thymol (%44.63), tarçın yağında ise cinnamaldhyde (%66.66) ana bileşen olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak kekik ve tarçın yağlarının kontakt fazı patates yumrularında *F. sambucinum* ve *R. solani*'yi kontrol etmede fungusitlere alternatif antimikrobiyal olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Article Info

Received: 11.10.2024

Accepted: 29.11.2024

Anahtar Kelimeler

Antifungal aktivite
Uçucu yağlar
Cinnamaldhyde
Thymol

Investigation of the Usage Possibilities of Some Essential Oils Against Potato Pathogens *Fusarium sambucinum* and *Rhizoctonia solani*

Abstract

The antifungal activity of four essential oils (Sage, Rosemary, Cinnamon and Thyme) against *Fusarium sambucinum* and *Rhizoctonia solani* causing rot in stored potatoes were investigated in the contact and vapor phase. In contact effect experiments of each oil, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 4000 $\mu\text{L/L}$, and in vapor phase experiments, 3, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μL /petri doses were used. Although all oils inhibited the mycelial growth of fungi in *in vitro* studies, the most effective essential oils were cinnamon and thyme. In the contact phase application, 100 $\mu\text{L/L}$ dose of thyme oil inhibited the mycelial growth of both fungi by 100%, while cinnamon oil at the doses of 200 $\mu\text{L/L}$ for *R. solani* and 300 $\mu\text{L/L}$ for *F. sambucinum* inhibited the mycelial growth by 100%. In the vapor phase, 25 μL /petri dose of cinnamon oil, 6.25 μL /petri dose of thyme oil for *R. solani* and 12.5 μL /petri dose of both oils for *F. sambucinum* inhibited the mycelial growth of fungi by 100. Thyme and cinnamon oil in the contact application on potato tubers, mycelial growth of both fungi was completely suppressed, while thyme oil showed better efficacy in the vapor phase. Thymol (44.63%) was determined as the main component in thyme oil and cinnamaldhyde (66.66%) was determined as the main component in cinnamon oil. In conclusion, it is thought that the contact phase of thyme and cinnamon oils can be used as alternative antimicrobials to fungicides in controlling *F. sambucinum* and *R. solani* on potato tubers.

Keywords

Antifungal activity
Essential oil
Cinnamaldhyde
Thymol



Corresponding Author

evrimarici@isparta.edu.tr

Giriş

Patates (*Solanum tuberosum* L.), dünyada ve ülkemizde sevilerek üretilen-tüketilen bir endüstri bitkisidir. Patatesin dünyadaki üretimi yaklaşık 368 milyon tondur (Yücel ve Oğuz 2020). Ülkemizde patates

üretimi 2023 yılında 5.7 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2024). Ülkemizde ve dünyada patateslerde hasat sonrası bazı hastalıklardan dolayı yumrulara verim kayıpları olmaktadır. Depolarda patateslerde yumru çürüklüklerine *Fusarium coeruleum*, *F. sambucinum*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium solani*, *Phytophthora infestans* (A1 and A2 mating types), *Phytophthora erythroseptica*, *Phoma exigua* ve *Pythium ultimum* gibi fungal etmenler neden olmaktadır (Boyd, 1972; Secor ve Salas, 2001; Aydın ve Turhan, 2013; Al-Mughrabi vd., 2013; Yıkılmazsoy ve Tosun, 2021). Bu bitki patojenleri içerisinde *Fusarium* spp.'nin neden olduğu *Fusarium* yumru çürüklüğü ile *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu siyah kabuk hastalığı ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır.

Fusarium yumru çürüklüğü patates bitkisinde tarlada ve depolardaki yumrulara hastalığa neden olur ve bitkilerde solgunluk ve kuru çürüklük meydana getirir. Patates yumrularında oluşan kuru çürüklük; yaralanmış ya da ezilmiş dokulardan başlar, başlangıçta küçük ve kahverengi çökük yüzeysel lekeler şeklinde oluşur. Çürüyen yumrular üzerinde fungusun ipliksi beyaz ya da menekşe renginde miselleri olabilir. Çürüklük ilerleyince, lekelerin olduğu yerlerde bir oyukluk oluşmaya başlar, bunu yumru yüzeyinin buruşarak mumyalaşması takip eder ve sonrasında yumrular sadece kuru kabuk şeklinde kalır. Patatesteki kuru çürüklüğe özellikle *Fusarium solani*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* ve *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu bilinmekte olup, bu funguslar insan ve hayvan sağlığına zarar veren fusarik asit mikotoksini de üretmektedir (Delen, 2007; Wharton vd., 2007).

Rhizoctonia solani (teleomorph: *Thanatephorus cucumeris*) yumru üzerinde siyah siğiller, çatlamlar ve şekil bozukluklarına neden olarak pazar değeri kayıplarına, bitkinin stolon ve gövdesinde çürüklüklere yol açarak bitkide besin maddelerinin organlara taşınmasını engeller ve gelişme geriliğine neden olur. Bu fungus topraktaki bitki kalıntılarında miselyum halinde veya serbest halde sklerot olarak, yumrulara ise 1-10 mm çapında sklerotlar halinde canlılığını sürdürür (Woodhall vd., 2007; Agrios, 2015). Patates yumrularının *R. solani* nedeniyle ekonomik kayıplar da oldukça önemlidir. Patateste pazarlanabilir ürün kayıplarının %30, verim kayıplarının çoğunlukla %10-15 arası olduğu bildirilmiştir (Little vd., 1988; Read vd., 1989).

Fusarium sambucinum ve *Rhizoctonia solani*'nin toprak ve tohum kökenli olması ve yumru ile kolay taşınması nedeniyle hastalığın mücadelesinde zorluklar yaşanmaktadır. Patates depolarında ürün kayıplarını engellemek amacıyla genellikle kimyasal mücadele uygulanmaktadır. Depo hastalıklarına karşı pestisit kullanımı tüketicilere ve çevreye olduğu kadar kullanıcılara da zararlı olabilmektedir. Ayrıca günümüzde depo hastalıklarına karşı etkili olan pestisitlerin sayısı oldukça azdır ve kuru çürüklük, gümüş kabuk gibi patates depo hastalıklarına neden olan patojenler, thiobendazole etkili fungusitlere karşı direnç geliştirmiştir (Hanson vd., 1996; Al-Mughrabi vd., 2013). Bununla birlikte, fosfor asidi hasat sonrası depo hastalıklarına karşı yaygın olarak kullanılmasına rağmen, sadece Oomycetes'lere karşı etkilidir (Al-Mughrabi, 2003). Bu nedenlerden dolayı alternatif hasat sonrası hastalık yönetimi araçlarına acil bir ihtiyaç vardır. Son yıllarda bitki hastalıklarına karşı uçucu yağların kullanımı ile ilgili çalışmalar büyük önem kazanmıştır (Nohutçu vd., 2021). Araştırmalar uygun dozda bitkisel uçucu yağların kullanılmasıyla kültür bitkilerinde; bitki hastalıklarının baskılanmasında olumlu değişimler sağlanabileceğini göstermektedir. Bitkilerdeki uçucu yağların patojenlere karşı ağırlıklı olarak bitki savunma bileşikleri olduğu, bunların antimikrobiyal veya fungusit özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Al-Mughrabi, 2003; Mosciano, 2005; El-Awady, 2020). Uçucu yağların mikotoksin üreten funguslar ve çeşitli patojenlere karşı antifungal etkisi daha önce birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve etkileri gösterilmiştir. Ülkemizde "kekik" olarak tanımlanan Lamiaceae familyasına ait pek çok hoş kokulu bitki türü bulunmakta ve içerisinde pek çok sekonder metabolit bulundurmaktadır. Kekik içerisinde özellikle carvacrol ve thymol sekonder metabolitlerinin yoğun olarak bulunduğu ve en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Baydar vd., 2009; Bounar vd., 2020). Bu metabolitler fungusların misel gelişimlerini inhibe etmektedir (Bozhüyük vd., 2015; Türkkan vd., 2020). Tarçın bitkisi ise Lauraceae familyası içerisinde bulunmakta olup özellikle içerisindeki eugenol, cinnamaldehyde sekonder metabolitlerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Yeole vd., 2014; Kowalska, vd., 2021). Ek olarak, uçucu yağlar biyolojik olarak parçalanabilir ve dolayısıyla tarımda hastalıkların kontrolünde yaygın olarak kullanılabilirler bile çevre dostudurlar. Bu

nedenle, patates depo hastalıklarının kontrolünde uçucu yağların kullanımı çevreye zararsız bir yaklaşım olabilir. Son yıllarda bazı araştırmacılar tarafından patates depolarında görülen depo hastalıklarına karşı uçucu yağlar ile ilgili denemeler yapılmaya başlanmıştır. Al-Mughrabi vd. (2013) yapmış oldukları çalışmada patateste görülen *Fusarium coeruleum*, *F. sambucinum*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium solani*, *Phytophthora infestans* (A1 ve A2 mating types), *Phytophthora erythroseptica*, *Phoma exigua* ve *Pythium ultimum* fungal hastalıklarına karşı *in vitro* koşullarda S-carvone, L-menthone, iki farklı türe ait nane yağları (peppermint ve spearmint) uygulamışlar ve fungusların misel gelişimlerine olan etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre uygulamaların hepsinde misel gelişimi engellenmiş olmasına rağmen, yağların arasında en az etkili olan Peppermint oil olduğu belirlenmiştir. Ghoneem vd. (2016), yapmış oldukları çalışmada kimyon ve nane uçucu yağlarının farklı konsantrasyonlarını patateste yumru hastalığına neden olan *Sclerotium rolfsii*'ye karşı denemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda %2'lik kimyon yağının fungal misel gelişimini tamamen engellediği belirtilmiştir. Paramanik ve Mandal (2016), yapmış oldukları çalışmada keklik üzümü, badem, kekik, limon otu ve kafur ağacından elde ettikleri yağları patateste kuru çürüklük hastalığı *etmeni Fusarium sambucinum*'a karşı denemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre en etkili yağın kafur ağacından elde edilen yağın olduğu ve hastalık oranının %5 oranın altında olduğu belirtilmiştir. Osman Mohammed Ali vd. (2017) patateste *S. rolfsii* ve *R. solani*'ye karşı nem ve limon otu yağının etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre her iki yağında *S. rolfsii* ve *R. solani* fungal patojenlerin misel gelişimlerini engelledikleri bildirilmiştir. Saroj vd. (2019) fesleğen, limonotu ve karniyarikotu yağının patateslerde *R. solani* hastalığının misel gelişimine olan etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre en etkili yağın limotu yağı olduğu belirtilmiştir.

Yapılan literatür ön araştırmada ülkemizde patateste depo hastalıklarına karşı uçucu yağlarla çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Genellikle uçucu yağların depolarda patates çimlenmesini engellemek amacıyla çalışmaların yapıldığı gözlenmiştir (Gómez-Castillo vd., 2013; Şanlı ve Karadoğan, 2019; Oktay ve Artık, 2021; Chen vd., 2024). Yapılan bu çalışmada, *Fusarium sambucinum* ve *Rhizoctonia solani*'ye duyarlı olan Agria patates çeşidine 4 ayrı bitkiden elde edilen (Adaçayı, Biberiye, Tarçın ve Kekik) uçucu yağlar farklı dozlarda uygulanarak *Fusarium sambucinum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı hem *in vitro* koşullarında hem de patates yumruları üzerinde etkinliği araştırılmış, hastalık etmenine karşı alternatif mücadele yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Patojen fungus

Bu çalışmada daha önce patateslerden Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarında Prof. Dr. Ş. Evrim ARICI tarafından izolasyonu, tanılması ve patojenite testi yapılmış *Fusarium sambucinum* ve *Rhizotonia solani* izolatları kullanılmıştır. Denemelerde funguslar PDA ortamında 25 °C'de 7 gün geliştirilerek kullanılmıştır.

Uçucu yağlar

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden Prof. Dr. Arif ŞANLI tarafından elde edilen Kekik (*Thymus vulgaris*), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.) tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) uçucu yağları kullanılmıştır.

Yöntem

Uçucu yağların elde edilmesi

Çalışmada kullanılan tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) kabukları ile kekik (*Thymus vulgaris*), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve adaçayı (*Salvia officinalis* L.) bitkilerinin herbaları öğütüldükten sonra Clavenger tipi hidrodistilasyon cihazında 3 saat distilayona tabii tutularak uçucu yağları elde edilmiştir

(Council of Europe, 1980). Uçucu yağlar çalışmada kullanılıncaya kadar koyu renkli cam şişelerde + 4 °C sıcaklıkta saklanmıştır.

Patojen fungusların misel gelişimlerine karşı uçucu yağların in vitro koşullarında kontakt (değme) ve buhar (fumigant) antifungal etkilerinin belirlenmesi.

Uçucu yağların değme ile patojen fungusların misel gelişimine etkilerinin belirlenmesi

Erlenmayerler içerisinde hazırlanan PDA ortamı 121°C'de 20 dakika steril edilecek ve su banyosunda 40°C'ye kadar soğutulduktan sonra her bir uçucu yağdan (1, 2, 4, 6, 8, 10 µL/L) konsantrasyonlarında olacak şekilde ilave edilerek steril petrilere her birine 15 ml gelecek şekilde dökülmüştür. Yapılan ön çalışmalarda belirtilen konsantrasyonda bazı yağlarda etkili sonuçlar bulunmadığı için yağ konsantrasyonları yeniden düzenlenmiştir (100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 4000 µL/L). Yağlar daha önce %0.05 Tween 80 içerisinde çözülerek ortam içerisine ilave edilmiştir. Kontrol olarak sadece %0.05 Tween 80 içeren su koyulmuştur. Önceden 25 °C'de PDA ortamında geliştirilmiş 7 günlük *F. sambucinum* ve *R. solani* fungal kültürlerden disk parçaları (0.5 mm çapında) uçucu yağ + PDA içeren petri kaplarının ortasına yerleştirilmiştir Petri kapakları sıkıca parafilmlelendikten sonra 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petri tamamen fungusla kaplanınca petrilere gelişen fungusların koloni çapları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Gakuubi vd., 2017).

$$\text{Engelleme (\%)}: [A-B/A] \times 100 \quad (1)$$

A: Kontrol radyal misel gelişimi.

B: Uygulama radyal misel gelişimi.

Uçucu yağların buhar fazında patojen fungusun misel gelişimine etkisinin belirlenmesi

Steril petri kaplarına (9 cm çapında) 15 ml PDA besin ortamı dökülmüş ve ertesi gün petri kaplarının merkezine 7 günlük *F. sambucinum* ve *R. solani* fungal kültürlerden disk parçaları (0.5 mm çapında) PDA ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Uçucu yağların farklı konsantrasyonları öncelikle 3, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µL/petri dozlarında steril %0,05 Tween 80 içeren su içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan dozlar petri kaplarının kapağının merkezine yerleştirilen steril filtre kağıdına damlatılıp petri kaplarının etrafı parafilm ile kapatıldıktan sonra ters çevrilerek 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petri kaplarına sadece %0.05 Tween 80 içeren saf su damlatılmıştır. Aynı koşullarda inkübe edilen kontrol grubu petrilereki fungusların gelişmeleri günlük olarak takip edilerek petriyi kaplamaya yakın olduğunda, kontrol ve uçucu yağ içeren petrilereki fungusların misel gelişmeleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Türkkan vd., 2020). Her bir deneme tesadüf parseller deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuş ve her bir deneme iki kez tekrarlanacaktır.

$$\text{Engelleme (\%)}: [A-B]/A \times 100 \quad (2)$$

A: Kontrol petrilereki fungal gelişme.

B: Uçucu yağ eklenmiş veya steril filtre kağıdına damlatılmış petrilereki fungal gelişme.

Minimum Engelleme Konsantrasyonu (MICs)

Misel gelişiminin hiç gözlenmediği en düşük yağ konsantrasyonundan alınan disk parçası yeni PDA ortamında 25 °C'de 5 gün inkübasyona alınacak ve minimum fungisidal etkisi belirlenmiştir. Ayrıca aktarılan fungusun tekrar gelişmeye başladığı ve petriyi tamamen kapladığı gün sayısı belirlenerek yağların konsantrasyonlarının fungistatik etkileri de belirlenmiştir.

Uçucu yağların GC analizleri ile ana bileşenlerinin belirlenmesi

In vitro denemelerinde hem kontakt hem de fümigant olarak en etkili olan kekik ve tarçın yağının sekonder metabolitleri GC/MS yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Her bitki türüne ait uçucu yağların bileşenleri GC/MS (Gaschromatography/Massspectrometry) cihazı (QP-5050 GC/MS, Quadrapole

detektörlü) ile belirlenmiştir. 10 µl uçucu yağ 1 ml n-hekzan içinde eritildikten sonra GC/MS cihazının CP-Wax 52 CB (50 m x 0.32 mm; film thickness 0.25 µm) kolonuna enjekte edilmiştir. Cihazın çalışma koşulları: Kapiler kolon: CP-Wax 52 CB (50 m x 0,32 mm, film thickness 0,25 µm), Fırın sıcaklık programı: 60 °C'den 220 °C'ye dakikada 10°C artırılarak ulaşılmış ve 220 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. Toplam koşuturma süresi: 60 dakika, Enjektör sıcaklığı: 240 °C, Detektör sıcaklığı: 250 °C, Taşıyıcı gaz: Helyum (20 ml/dak.). Dedektör enerji akışı 70 eV, iyonlaştırma türü EI ve helyum akış hızı 20 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Bileşenler, kütle spektrumlarının standart maddelerin geliş zamanlarının NIST ve Wiley kütüphanelerinde rapor edilen değerleri ile karşılaştırılması yoluyla tanımlanmıştır (Rostad ve Pereira, 1986; Adams, 2007).

In vivo denemeleri

In vitro çalışmasında en etkili uçucu yağın en etkili konsantrasyonu ile *in vivo* koşullarında deneme kurulmuştur. *In vitro* çalışmalarında patojen funguslara karşı en etkili tarçın ve kekik yağları olmuştur. Denemede Agria patates çeşidi kullanılmıştır. Sağlıklı patates yumruları (yaklaşık 20 g) %0.5 çamaşır suyu ile 3 dakika steril edildikten sonra birkaç kez sudan geçirilmiş ve daha sonra kurutulmuştur. Patates yumruları hafif yaralandıktan sonra denemede kullanılacak kabin hacmine göre *in vitro* denemede belirlenen tarçın ve kekik yağının kontakt etkisi için kekik yağının 100 µL/L dozu her iki fungus için, tarçın yağının kontakt etkisi için ise *R. solani* için 200 µL/L ise *F. sambucinum* için 300 µL/L olarak sadece %0.05 Tween 80 içeren saf su içerisinde hazırlanmıştır. Patates yumruları 20 dakika hazırlanan uçucu yağ dozları içerisinde bekletilmiş, daha sonra 2 saat kurutmaya bırakılmıştır. Buhar fazı için ise *Rhizoctonia solani* için tarçın yağı 25 µL /petri kekik yağı ise 6.25 µL/petri olarak, *F.sambucinum* için ise her iki yağın 12.5 µL /petri dozu kullanılmıştır. Denemelerde her iki fungus için *in vitro*'da etkili olan yağ konsantrasyonları, kullanılan kabın hacmine göre hesaplanarak uygulanmıştır. Denemede kullanılacak patates yumruları muhafaza etmek için plastik sızdırmaz kaplar kullanılmıştır. Patateslerin bulunduğu kapların üzerine steril whatman kağıtların üzerine bu konsantrasyonda yağlar damlatılmıştır. Nem kontrolünü sağlamak amacıyla da steril kurutma kağıtları kesilerek kapların tabanına konulmuş ve steril su ile ıslatılmıştır, daha sonra kaplar streçfilm ile tamamen kapatılmıştır. Denemede uygulamalar yanında emsal fungusit olarak tohum ilacı Dynasty CST 125 FS, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Pozitif kontrolde yumrulara uçucu yağ uygulaması yapılmadan sadece her bir patojen fungus ile inokule edilmiştir. Negatif kontrolde ise yumrulara sadece %0.05 Tween 80 içeren su uygulaması yapılmıştır.

F. sambucinum ve *R. solani* inokulasyonu için, sterilizasyonu yapılmış ve kurutulmuş patates yumrular 5 mm çapında ve 4 mm derinliğinde bir mantar delici ile yaralanarak PDA ortamında geliştirilen 7 günlük *F. sambucinum* ve *R.solani*'ye ait 5 mm disk parçası her bir fungus için patates yumrusu üzerinde yaralanan kısma koyularak inokulasyon yapılmıştır. Daha sonra patates yumruları kapların içerisine konularak 25 °C'de 4 hafta inkübasyona alınmıştır. Kontrol yumrulara ise sadece PDA ortamı içeren disk parçası yerleştirilmiştir. Emsal fungusit olarak tohum ilacı Dynasty CST 125 FS firmanın önerdiği dozda kullanılmıştır. İnkübasyon süresi sonucunda yumrular *F. sambucinum* için inokulasyon yerinden uzunlamasına kesilmiş, hastalık şiddeti *F. sambucinum* 0-5 hastalık skalasına göre değerlendirilmiştir. *Fusarium sambucinum* 0-5 skalası: 0 Enfeksiyon yok (doğal ve yapay olarak enfekte olmuş yumrulara) 1: %1–%20 enfekte doku, 2: %21–%40 enfekte doku, 3: %41–%60 enfekte doku, 4: %61–%80 enfekte doku, 5: yumrunun %81≤ enfekteli olması (Yıkılmazsoy ve Tosun, 2021). Uygulamadan 4 hafta sonra yumrulara *R. solani* ile inokule edilmiş yumrular 0-5 skalasına göre değerlendirilmiştir. 0 Enfeksiyon yok, 1: < 1% yumru yüzeyi enfekteli, 2: 1 to 10% yumru yüzeyi enfekteli, 3: 11 to 20% yumru yüzeyi enfekteli; 4: 21 - 50% yumru yüzeyi enfekteli, 5: > 50% yumru yüzeyi enfekteli (Ahmad vd., 1995). Skala değerlerine göre elde edilen veriler her bir fungus için hastalık şiddeti hesaplanmıştır (Townsend ve Heuberger, 1943). Her iki hastalıktan yağlara karşı elde edilen % etki ABBOT formülüne göre hesaplanmıştır (Abbott, 1925).

İstatistik analizler

Çalışmalar sonucunda elde edilen veriler Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir (p<0.05). İstatistiksel analizler için IBM® SPSS® 22 Statistics paket programlarından yararlanılmıştır.

Bulgular

Patojen fungusların misel gelişimlerine karşı uçucu yağların in vitro koşullarında değme ve buhar fazında antifungal etkilerinin belirlenmesi

Yapılan bu çalışmada farklı dozlarda adaçayı, biberiye, tarçın ve kekik yağları *F. sambucinum* ve *R. solani* funguslarının misel gelişimine değme ve buhar fazında etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre uygulanan bütün dozlar farklı konsantrasyonlarda *F. sambucinum* ve *R. solani* misel gelişimini engellemiştir. Uçucu yağların kontakt değme yoluyla her iki fungusun misel gelişiminde en etkili yağlar *F. sambucinum* için kekik ve tarçın yağında 100 µL/L, *R. solani* için ise kekik yağında 300 µL/L, tarçın yağında ise 200 µL/L, olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. *F. sambucinum* ve *R. solani* funguslarının misel gelişimine uçucu yağların kontakt etkisinin belirlenmesi.

Uçucu yağlar ve dozları (µL/L)	Misel gelişimi (cm)		Engelleme(%)		Uçucu yağlar ve dozları (µL/L)	Misel gelişimi (cm)		Engelleme(%)*		
	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>		<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>	
K E K i K	100	0.0±0.0 a	7.8±0.8 c	100	13.33	B 100	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0
	200	0.0±0.0 a	3.8±3.4 b	100	57.78	İ 200	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0
	300	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	B 300	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0
	400	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	E 400	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0
	500	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	R 500	5.4±1.2 cd	8.5±0.4 c	40	5.55
	1000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	İ 1000	2.1±1.4 b	0.0±0.0 a	76.67	100
	2000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	Y 2000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100
4000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	E 4000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
A 100	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0	100	0.0±0.0 a	4.7±1.5 b	100	100	
D 200	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0	T 200	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
A 300	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0	A 300	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
Ç 400	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0	R 400	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
A 500	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c	0	0	Ç 500	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
Y 1000	8.2±1.4 ef	9.0±0.0 c	8.89	0	İ 1000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
I 2000	6.6±1.1 de	9.0±0.0 c	33.33	0	N 2000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
	4000	4.2±2.3 c	0.0±0.0 a	53.33		100	4000	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100
Kontrol	9.0±0.0 f	9.0±0.0 c			Dynasty	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	

*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik fark bulunmaktadır.

Kekik ve tarçın yağının düşük dozları her iki fungusun misel gelişiminde %100 etkili olmuştur. Adaçayı ve biberiye yağının her iki fungusu karşı ise yüksek dozları etkili olmuştur. Adaçayı yağının 4000 µL/L dozu *F. sambucinum* misel gelişimini % 53.33 oranında engellerken, *R. solani* misel gelişimini %100 engellemiştir. Biberiye yağının değme yoluyla uygulanmasında 1000 µL/L dozunda *R. solani* misel gelişimi %100 oranında engellenirken, 2000 µL/L dozu ise *F. sambucinum* fungusunun misel gelişimini %100 oranında engellemiştir. Sonuç olarak, uygulamaların hepsinde misel gelişimi engellenmiş olmasına rağmen, patojen funguslara karşı kekik ve tarçın yağlarının düşük dozları fungusların misel gelişiminin engellenmesinde etkili olurken, adaçayı ve biberiye yağının yüksek dozları etkili olmuştur (p<0.05).

Denemede kullanılan yağların buhar fazındaki etkisi incelendiğinde *F. sambucinum*'a karşı tarçın ve kekik yağında 12.5 µL /petri, *R. solani* için ise kekik yağının 6.25 µL /petri, tarçın yağının 25 µL /petri dozu etkili olup misel gelişimini %100 oranında engellemiştir. Adaçayı yağının buhar fazı olarak denemede uyguladığımız dozlar her iki fungusu karşı etkili olmamış ve misel gelişimini engellememiştir (p<0.05). Biberiye yağı ise *R. solani*'ye karşı 50 µL /petri'de fumigant etkili olurken, *F. sambucinum*'a karşı hiçbir dozunda fumigant bir etki tespit edilmemiştir. (Tablo 2). Sonuç olarak adaçayı ve biberiye yağının denemede uyguladığımız dozlar heriki fungusun misel gelişiminde çok etkili olmayıp daha yüksek dozların buhar fazı olarak uygulanması gerekli olduğu düşünülmektedir.

Minimum Engelleme Konsantrasyonu (MICs)

Hiçbir büyümenin meydana gelmediği en düşük uçucu yağ konsantrasyonunda (MICs) için misel gelişiminin hiç gözlenmediği en düşük yağ konsantrasyonundan alınan disk parçası yeni PDA ortamında 25 °C'de 7 gün inkübasyona alındı ve misellerin hem kontakt etkili ortamdaki alandan hem de fumigant etkili ortamdaki alınan disk parçalarında hiçbir büyüme gözlenmemiştir (Tablo 1, 2). En etkili doz kontakt etki için *Fusarium sambucinum* için kekik ve tarçın yağında 100 µL /ml), *R. solani* için ise kekik yağında 300 µL/ml, tarçın yağında ise 200 µL/ml, olarak tespit edilmiştir. Fumigant etkili de ise *F.sambucinum*'a karşı en etkili yağ tarçın ve kekik yağında 12.5 µL/petri, *R. solani* için ise kekik yağının etkili dozu 6.25 µL/petri, tarçın yapı ise 25 µL/petri olarak belirlenmiştir. Her iki fungusu karşı adaçayı ve biberiye yağının yüksek dozlarda etkisi bulunmuştur.

Tablo 2. *F. sambucinum* ve *R. solani* funguslarının misel gelişimine uçucu yağların fumigant etkisinin belirlenmesi

Uçucu yağlar ve dozları (µL/ petri)	Misel gelişimi (cm)		Engelleme(%)		Uçucu yağlar ve dozları (µL/ petri)	Misel gelişimi (cm)		Engelleme(%)*			
	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>		<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>		
K E K İ K	3.1	5.1±1.7 b	4.1±3.6 bc	43.33	54.44	B	3.1	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0
	6.25	2.0±1.7 a	0.0±0.0 a	77.78	100	İ	6.25	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0
	12.5	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	B	12.5	9.0±0.0 c	7.3±2.0 d	0	20
	25	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	E	25	9.0±0.0 c	2.5±2.1 ab	0	72.22
	50	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	R	50	9.0±0.0 c	0.0±0.0 a a	0	100
A D A Ç A Y I	100	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	Y	100	9.0±0.0 c	0.0±0.0 d	0	100
	3.1	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0	E	3.1	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0
	6.25	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0	T	6.25	6.2±2.9 b	9.0±0.0 d	31.11	0
	12.5	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0	A	12.5	0.0±0.0 a	6.0±1.8 cd	100	33.33
	25	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0	R	25	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100
50	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0	Ç	50	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
100	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d	0	0	İ	100	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100	
Kontrol	9.0±0.0 c	9.0±0.0 d				N	100	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	100	100
						Dynasty		7.5±2.1 c	9.0±0.0 d		

*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen veriler arasında p<005 düzeyinde istatistik fark bulunmaktadır.

GC analiz sonuçları

Çalışmada kullanılan uçucu yağların GC-MS sonuçları Tablo 3 ve Tablo 4'de verilmiştir. Kekik uçucu yağının 40 farklı bileşenden oluştuğu ve önemli bileşenlerin thymol (%44.63), paracymene (%22.01), gamma terpinene (%6.89) ve linalool (% 5.53) olduğu, tarçın uçucu yağının ise toplam 32 bileşen içerdiği ve cinnamaldehyde (%66.66), trans cinnamyl acetate (% 5.59) ve trans caryophyllene'in (%5.42) uçucu yağda bulunan önemli bileşenler olduğu saptanmıştır (Tablo 3). Biberiye uçucu yağında 38 bileşen tespit edilmiş olup, camphor (%27.53), 1,8-cineole (15.66), α-pinene (%11.23) ve camphene (%8.02) önemli bileşenler olarak belirlenmiştir. Adaçayı uçucu yağının ise toplamda 31 farklı bileşenden oluştuğu ve α-thujone (%23.48), 1,8-cineole (%22.30) ve camphor'un (%15.90) uçucu yağı oluşturan önemli bileşenler olduğu belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 3. Kekik ve tarçın uçucu yağ bileşenleri.

Kekik				Tarçın			
No	RT	Bileşenler	%	No	RT	Bileşenler	%
1	8.415	tricyclene	0.08	1	8.061	α-pinene	3.09
2	8.531	α-pinene	1.83	2	8.577	camphene	0.18
3	9.053	camphene	1.95	3	9.077	β-pinene	0.15
4	9.573	β-pinene	0.24	4	9.142	sabinene	0.04
5	9.728	Sabinene	0.04	5	9.485	β-myrcene	0.04
6	10.019	β-myrcene	1.30	6	9.53	δ-3 carene	0.03
7	10.286	α-phellandrene	0.15	7	9.753	α-phellandrene	0.49
8	10.503	α-terpinene	1.15	8	9.957	α-terpinene	0.19
9	10.807	d-limonene	0.50	9	10.252	dl-limonene	0.60
10	11.013	1,8-cineole	0.82	10	10.463	β-phellandrene	0.77
11	11.533	γ-terpinene	6.89	11	10.539	eucalyptol	2.72
12	11.956	paracymene	22.01	12	11.372	paracymenene	2.62
13	12.203	α-terpinolene	0.16	13	11.604	α-terpinolene	0.04
14	12.933	Butanoic acid, 4-pentenyl	0.13	14	15.739	α-copaene	0.22
15	13.257	cis-sabinen hydrate	0.03	15	16.082	linalool	4.19
16	13.508	terpinolene	0.04	16	17.33	β-elemene	0.02
17	13.648	3-octanol	0.06	17	17.539	terpinen-4-ol	0.04
18	14.705	1-octen-3-ol	0.07	18	17.83	trans caryophyllene	5.42
19	14.978	p-Dimethylstyrene	0.15	19	19.159	α-humulene	0.39
20	15.491	linalool oxide (2)	0.06	20	20.513	δ-cadinene	0.03
21	16.624	linalool	5.53	21	22.447	1,3-Benzodioxole	0.06
22	16.859	camphor	1.53	22	22.899	cinnamal	0.47
23	17.888	isobornyl acetate	0.43	23	23.154	tetradecanal	0.05
24	18.08	terpinene 4-ol	1.07	24	23.371	calacorene	0.02
25	18.548	trans caryophyllene	1.62	26	24.791	caryophyllene oxide	0.20
26	18.766	aromadendrene	0.13	27	25.342	cinnamaldhyde	66.66
27	19.106	Borneole	3.26	28	26.853	trans cinnamyl acetate	5.59
28	19.721	α-terpineol	0.25	29	27.012	eugenol	4.43
29	19.967	α-terpinenyl acetate	0.24	30	28.357	isoeugenol 2	0.12
30	20.174	α-terpinyl propionate	0.09	31	31.761	Para cinnamic aldehyde	0.35
31	20.611	β-bisabolene	0.11	32	36.069	benzyl benzoate	0.39
32	21.279	δ-cadinene	0.13			Toplam	99.64
33	21.427	γ-cadinene	0.11				
34	22.324	thymyl acetate	0.13				
35	25.414	caryophyllene oxide	0.31				
36	27.346	isothymol	0.14				
37	27.664	thymol	44.63				
38	27.95	2-Methyl-5-isopropylphenol	0.15				
39	28.168	carvacrol	1.61				
40	29.215	Silane, trimethylphenyl-	0.12				
		Toplam	99.36				

Tablo 4. Biberiye ve adaçayı uçucu yağ bileşenleri.

Biberiye				Adaçayı			
No	RT	Bileşenler	%	No	RT	Bileşenler	%
1	6.296	tricyclene	0.37	1	7.108	cis-salvene	0.03
2	6.380	α -thujene	0.04	2	7.964	α -pinene	4.15
3	6.668	α -pinene	11.23	3	8.458	camphene	3.89
4	7.232	camphene	8.02	4	8.939	β -pinene	3.89
5	7.339	verbenene	0.66	5	9.333	β -myrcene	2.03
6	7.985	sabinene	0.08	6	9.592	α -phellandrene	0.12
7	8.250	β -pinene	2.20	7	9.792	α -terpinene	0.45
8	8.504	3-octanone	0.12	8	10.081	dl-limonene	2.56
9	8.723	β -myrcene	7.00	9	10.384	1,8-cineole	22.30
10	9.427	α -phellandrene	0.41	10	10.757	gamma terpinene	1.00
11	9.556	δ -3-carene	1.29	11	11.164	paracymenene	1.34
12	9.919	α -terpinene	0.54	12	11.395	α -terpinolene	0.40
13	10.280	para-cymene	1.57	13	13.974	1-octen-3-ol	0.21
14	10.547	limonene	4.73	14	14.178	α -thujone	23.48
15	10.724	1,8-cineole	15.66	15	14.49	β -thujone	5.21
16	10.821	cis-ocimene	0.05	16	14.55	trans sabinene hydrate	0.19
17	11.339	β -ocimene	0.02	17	15.827	linalool	0.23
18	11.934	γ -terpinene	0.76	18	16.098	camphor	15.90
19	13.385	α -terpinolene	0.95	19	16.19	1-terpineol	0.21
20	13.619	α -dimethylstyrene	0.12	20	17.026	isobornyl acetate	1.18
21	14.261	linalool	2.64	21	17.277	terpinen 4-ol	0.48
22	14.471	nonanal	0.11	22	17.567	trans caryophyllene	5.67
23	15.372	filifolone	0.11	23	17.762	aromadendrene	0.24
24	15.686	α -campholenal	0.06	24	18.105	sabinyl acetate	0.14
25	17.077	camphor	27.53	25	18.477	hedycaryol	0.16
26	17.386	Trans-sabinene hydrate	0.07	26	18.89	α -terpineol	2.07
27	17.694	pinocamphone	0.22	27	19.107	endoborneol	0.85
28	17.807	pinocarvone	0.19	28	19.271	ledene	0.10
29	18.536	borneol	4.72	29	20.232	δ -cadinene	0.04
30	18.675	isopinocamphone	0.86	30	24.504	caryophyllene oxide	0.20
31	19.001	4-terpineol	0.76	31	25.847	veridiflorol	0.48
32	19.951	α -terpineol	1.44			Toplam	99.20
33	20.650	berbenone	1.04				
34	25.686	bornyl acetate	2.27				
35	34.252	caryophyllene	0.96				
36	36.495	α -humulene	0.18				
37	40.556	δ -cadinene	0.18				
38	44.204	caryophyllene oxide	0.26				
		Toplam	98.75				

In vivo denemeleri

Patates yumrusu üzerine uygulanan *F. sambucinum* inokulasyonuna karşı tarçın ve kek yağının hem kontakt etkisi hem de buhar fazı etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda kontakt etkili uygulama da hem tarçının yağının hem de kekik yağının uygulanan dozu patates yumrularında her iki hastalığı da engellemiş ve %100 etkiye sahip olmuştur. Kontakt etkili yağ uygulamalarında patates yumrularında *F. sambucinum* ya da *R. solani*'ye ait herhangi bir nekrotik lekeler belirlenmemiştir. Uçucu yağların buhar fazında patates yumrularına uygulamasında ise kekik yağının *F. sambucinum*'a karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir. Dynasty ise patates yumrularında her iki hastalığı kontakt etkili uygulamada baskılamış ve %100 etki göstermiştir. Bunun yanısıra Dynasty fumigant uygulamasının yağ uygulamaları ile karşılaştırıldığında etkili olmadığı belirlenmiştir (Tablo 5). *F. sambucinum*'a ait çürüklükler ve *R. solani*'ye ait tipik nekrotik lekeler yağların ve emsal ilaç Dynasty'nin fumigant uygulamalarında ve sadece hastalık etmenlerin uygulandığı kontrol yumrularında tespit edilmiştir.

Tablo 5. Uçucu yağlarının patates yumrularında *F. sambucinum* ve *R. solani* funguslarının etkisinin belirlenmesi

Uçucu yağlar ve Uygulama şekli	Hastalık şiddeti		%Etki	
	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>	<i>F. sambucinum</i>	<i>R. solani</i>
Kontakt-Tarçın	0.0±0.0 a	100	0.0±0.0 a	100
Kontakt-Kekik	0.0±0.0 a	100	0.0±0.0 a	100
Kontakt-Dynasty	0.0±0.0 a	100	0.0±0.0 a	100
Fumigant-Tarçın	1.5±0.6 b	54	2.0±0.0 b	50
Fumigant-Kekik	1.0±0.0b	64	1.8±0.5 b	54
Fumigant-Dynasty	2.8±0.5 c	28	3.0±0.6 cd	29
Kontrol (+)	4.2±0.5 d		4.5±0.8 d	

*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik fark bulunmaktadır.

Tartışma

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda *in vitro* denemelerinde uygulamaların hepsinde patates de *F. sambucinum* ve *R. solani* fungal hastalık etmeninin misel gelişimi engellenmiş olmasına rağmen, patojen funguslara karşı hem kontakt hem de buhar fazında kekik ve tarçın yağlarının düşük dozları fungusların misel gelişiminin engellenmesinde etkili olurken, adaçayı ve biberiye yağının yüksek dozları etkili olmuştur.

Adaçayı ve biberiye yağının yağ dozu arttıkça engelleyici etkisinin de arttığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada kekik ve tarçın yağının düşük dozlarında bile her iki fungusun misel gelişimini engellediği belirlenmiştir. Denemede adaçayı ve biberiye yağının funguslara karşı antifungal etkisinin az olmasının nedeni denemede uygulanan dozların düşük oranda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle *in vivo* çalışmalarında patates yumrularında görülen her iki hastalık etmenine karşı kekik ve tarçın yağı tercih edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar başka araştırmacıların yaptığı araştırma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Bazı araştırmacılar adaçayı yağının bitki patojeni funguslara karşı etkili olduğunu, ama bunun uygulanan doza, kullanılan bitki ekstraktına ve adaçayı yağının elde edildiği bitki çeşidine göre değişkenlik gösterdiklerini belirtmişlerdir (Ćosić, vd., 2010; Yılar vd., 2018; Al-Baldawy vd., 2021). Çilekte *Colletotrichum acutatum*'a karşı *in vitro* koşullarında kekik yağı 200 µL/L konsantrasyonun üzerinde *C. acutatum*'un misel gelişimini tamamen inhibe ederken, nane ve adaçayı yağlarının *C. acutatum*'un misel büyümesini azalttığı belirlenmiştir. Ek olarak adaçayı yağının 1800 µL/L dozu üzerinde *C. acutatum*'un misel büyümesini engellemeye başladığı, adaçayı yağının etkinliğinin test edilen konsantrasyonlarda nispeten düşük olduğunu ve artırılması gerektiği ifade edilmiştir (Morkeliüné vd., 2021). Aydın ve Altın (2022) *Alternaria brassicola*'ya karşı biberiye yağının farklı dozlarının etkinliğini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre en etkili doz 80 µL/petri (4000 µL/1000 ml) belirtilmiş ve koparılmış yaprak denemelerinde tüm dozlarda etki elde edilememiştir. Kekik (*Origanum onites* L.) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *Fusarium solani*'ye karşı antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en etkili biberiye uçucu yağının yüksek dozu (4 µl/ml) test edilen *Fusarium solani*'ye karşı %71.72 etki göstermiş ve doz seviyesi arttıkça antifungal etkinin de arttığı belirlenmiştir (Sivrikaya vd., 2021). Jadoa ve Ibade (2023) yapmış oldukları çalışmada biberiye yağının farklı konsantrasyonlarda (%0, 0.5, 0.75, 1) domatestede hastalığa neden olan *Fusarium oxysporum*'un misel gelişimine etkisini araştırmışlardır. Misel gelişimini %1'lik yağ uygulamasında %90, 7 oranında engellediği bildirilmiştir. Hassan vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada kekik yapının *F. sambucinum*'un misel gelişimini engellediklerini belirtmişlerdir. Kowalska vd. (2021) tarçın, kekik, fesleğen ve rezene uçucu yağlarının *Pythium* sp., *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *pisi*, *Verticillium albo-atrum* ve *Rhizoctonia* sp. üzerinde fungusit etki gösterdiği tespit etmişlerdir. Bounar vd. (2020) kekik yağlarının *Fusarium* türlerinin misel gelişimini engellediğini belirtmişlerdir. Bazı araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalarda tarçın ve kekik yağlarının *Aspergillus flavus*'a karşı fumigant engelleyici etkileri gösterdiğini ve yağ dozu arttıkça engelleyici etkisinin de arttığını belirtmiştir (Massoud vd., 2012; Rangsuwan vd., 2021). *In vitro* koşullarında kekik yapı uygulamasının *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL), *Phytophthora infestans* ve *Rhizoctonia solani* dahil olmak üzere bitki patojenlerine karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu, FORL P. *infestans* ve *R. solani*'de 4 µL/petri dozunda miselyum büyümesini %100 engellediği belirtilmiştir (Aksit vd., 2022). Bisht

vd. (2021) *Cinnamomum tamala* (Buch.-Ham.) T.Nees & Eberm.'dan elde ettikleri uçucu yağın *Rhizoctonia solani* AG-4, *Choanephora cucurbitarum* ve *Bipolaris australiensis*'e karşı antifungal aktivitelerini belirlemek için değme, uçucu ve spor çimlenmesi inhibisyon analizlerini yapmışlardır. *C. tamala* yağı 500-560 ppm konsantrasyon aralığında zehirli gıda tekniğinde tam fungus misel büyümesini inhibe etmiştir. Benzer şekilde, 500 ppm'lik bir yağ konsantrasyonu spor çimlenmesini engellemiştir. Bu nedenle, bu tür bileşimleri içeren ürünler bitki hastalıkları yönetimi için kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir.

Yapmış olduğumuz araştırmada fungal patojenlere karşı en etkili olan kekik yağında en fazla thymol, paracymene, gamma terpinene, linalool ve carvacrol (%1.61); tarçın yağında ise cinnamaldehyde, trans cinnamyl acetate, eugenol belirlenmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından tarçın ve kekik yağı içeriklerinde linalool, carvacrol, thymol'un tarçın yağında ise eugenol, cinnamaldehyde bileşiklerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir (Camele vd., 2012; Yeole vd., 2014). Pina-Vaz vd. (2004), çeşitli kekik türlerinin antifungal etkisini incelemişlerdir. Kullanılan kekik türleri *Thymus vulgaris*, *T. zygis subspecies zygis* ve *T. mastichina subsp mastichina*'dır. Yapılan bu çalışmanın sonunda antifungal etkinin yağların ana bileşenlerini oluşturan carvacrol, thymol, p-cymene ve 1.8-cineole'den kaynaklandığını tespit etmişlerdir. *T. vulgaris* ve *T. zygis* yağlarının benzer antifungal aktiviteye sahip olduğu ve *T. mastichina* yağının bu iki yağla nazaran daha düşük etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yeole vd. (2014) yapmış oldukları çalışmada *A. solani*'ye karşı tarçın yağı içerisinde eugenol, cinnamaldehyde bileşiklerin antimikrobiyal etkiye sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Yapılan *in vivo* çalışmalarında patates yumrularına direk yağ uygulamaları *F. sambucinum* ve *R. solani* fungal hastalık etmenini tamamen baskılamak, uçucu yağların buhar faz etkisi patates yumrularında *F. sambucinum* ve *R. solani* fungal hastalık oluşumunu ve patates yumrularında hastalık belirtilerini kısmen engellemiştir. Uçucu yağların buhar faz ve kontakt etkili uygulamalarının *F. sambucinum* ve *R. solani* 'te etkisi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak buhar faz uygulamasının etkinliğinin daha az olarak belirlenmiştir. Arıcı ve Sanlı (2014) tarla koşullarında patates *R. solani* ve *Streptomyces scabies* fungal hastalıklarına karşı (*Cuminum cyminum*, *Anethum graveolens*, *Salvia officinalis*, *Origanum onites*, *Rosmarinus officinalis* ve *Lavandula intermedia*) uçucu yağların etkinliklerini araştırmışlar ve yumrulara direk değme şeklinde uygulamışlardır. Araştırma sonucunda *Origanum onites* ve *Anethum graveolens* yağları *S. scabies*'in hastalık şiddetini azaltırken, *Lavandula intermedia* *S. scabies*'i zayıf bir şekilde etkilemiştir. *Salvia officinalis* yağı için *R. solani*'nin hastalık şiddeti %4-4.2 idi. *Salvia officinalis* yağı ile patates yumrularının enfeksiyonu önemli ölçüde azaltılarak hastalık gelişimi de tarla koşullarında kontrol altına alınmıştır. Bu çalışma, uçucu yağların tarla koşullarında patates bitkilerinde *Rhizoctonia solani* ve *Streptomyces scabies*'in kontrolü için antimikrobiyal koruyucu olarak potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışmalarda bazı araştırmacılar farklı sonuçlar almamızın nedeni fumigant etkili kullanılan bu yağların etkinliği üzerinde etkisi petri kaplarında bulunan uçucu yağların konsantrasyonundan ve uçucu yağların uçuculuğundaki değişkenliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle patates yumrularındaki patojen funguslar için uyguladığımız yağların düşük sıcaklıklarda ve farklı konsantrasyonlarda etkinliğin olup olmadığının araştırılması gerekmektedir.

Sonuç

Patates, küresel nüfusun büyük bir kısmının bağımlı olduğu önemli bir dünya emtiasıdır. Bu nedenle hem taze hem de işlenmiş patateslerin her zaman yeterli miktarda bulunması ve depo hastalıklarından dolayı kaynaklanan gıda atıklarının en aza indirilmesi veya ortadan kaldırılması gerekir. Ürünün depolarda hastalıklardan korunması yeterli olmadığı için, depo hastalıklarını bastırmanın fiziksel ve kimyasal yollara ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak, yaygın olarak kullanılan patates depo hastalıklarını baskılamada kullanılan kimyasallar insan ve çevre sağlığı üzerindeki zararlı etkileri konusundaki endişeler, alternatif mücadele yöntemleri olarak uçucu yağlara daha fazla dikkat çekilmesine neden olmuştur. Genellikle güvenli olarak kabul edilen uçucu yağlar, çalışanların toksik kimyasallara maruz kalmasını azaltır, patatesteki toksik kalıntıları ortadan kaldırır ve dolayısıyla tüketici sağlığının iyileştirilmesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda kullanmış olduğumuz kekik ve tarçın yağının

kullanımının sentetik fungusitlere alternatif olarak patates yumrularında fungal patojen enfeksiyonlarını önleyebileceğini düşünülmektedir. Uçucu yağların bitki hastalıklarına olan etkisi ile ilgili çoğu çalışma, *in vitro* testlerle sınırlı kalmıştır. Bizler *in vivo* çalışması olarak patates yumrularında yağları kullanarak bazı sonuçlar elde etmemize rağmen daha detaylı çalışmaların ortaya konulması gerekmektedir. Patates de yumru hastalıklarına neden olan patojenlere karşı patates yumrularını korumak amacıyla olası biyopestitler olarak diğer yağ bileşimleri de araştırılmalıdır. Ayrıca, bu uçucu yağların uçucu buhar fazının gıda ürünleri için kullanılmasının avantajları, ürünün nihai tadı ve aroması üzerinde daha az etkiye sahip olabilmesi ve salınımının daha iyi düzenlenebilmesidir. Bu nedenle uçucu yağlar depo hastalıklarının tedavisinde daha fazla tercih edilebilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışma sonuçları patates yumrularında ciddi çürüklüğe neden olan *F. sambucinum* ve *R. solani*'ye karşı tarçın ve kekik yağının kullanma potansiyeli olduğunu ve yeni çevre dostu stratejilerin geliştirilmesi için potansiyel olduğunu göstermiştir.

Teşekkür

2209/A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destek Programı kapsamında 1919B012201802 nolu çalışmanın gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Yazar Katkı Oranları

Çalışma, Şerife Evrim ARICI tarafından kurgulanmıştır. Kaynak/Materyal/Malzeme temini Şerife Evrim ARICI, Arif ŞANLI, laboratuvar çalışmaları Şerife Evrim ARICI, Arif ŞANLI, Raziye Dilara ÇAPA tarafından yapılmıştır. Makale yazımına tüm yazarlar katkı sağlamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması olmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı

Makale yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynaklar

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265–267
- Adams, P. R. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry, 4th Edition. *Allured Publ., Carol Stream, IL, USA*
- Agrios, G. N. (2015). *Plant Pathology*, 6th Edition. Academic Press, New York.
- Ahmad, I., Soomro, M. H., Khalid, S., Iftikhar, S., Munir, A., & Burney, K. (1995). Recent distributional trends of potato diseases in Pakistan. national seminar on research and development of potato production in Pakistan, April 23-25, NARC, PSPDP, PARC, Islamabad, Pakistan.
- Aksit, H., Bayar, Y., Simsek, S., & Ulutas, Y. (2022). Chemical composition and antifungal activities of the essential oils of thymus species (*Thymus pectinatus*, *Thymus convolutus*, *Thymus vulgaris*) against plant pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25(1), 200–207. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2043189>
- Al-Baldawy, M. S. M., Matloob, A. A., & Almammory, M. K. (2021). Effect of plant extracts and biological control agents on *Rhizoctonia solani* Kuhn. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 735(1), 012079. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/735/1/012079/pdf>
- Al-Mughrabi, K. I., Coleman, W. K., Vikram, A., Poirier, R., & Jayasurija, K. E. (2013). Effectiveness of essential oils and their combinations with aluminium starch octenylsuccinate on potato storage pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16, 23–31. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.764201>
- Al-Mughrabi, K. I. (2003). Antimicrobial activity of extracts from leaves, stems and flowers of *Euphorbia macroclada* against plant pathogenic fungi. *Phytopathologia Mediterranea*, 42, 245–250.

- Arıcı, S. E., & Sanlı, A. (2014). Effect of some essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Streptomyces scabies* on potato plants in field conditions. *Annual Research & Review in Biology*, 4(12), 2027.
- Aydın, M.H., & Turhan, G. (2013). The efficacy of *Trichoderma* species against *Rhizoctonia solani* in potato and their integration with some fungicides. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 23(1), 12-30. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/epdf/10.5555/20143133378>
- Aydın, H., & Altın, N. (2022). Biberiye bitkisine ait uçucu yağın *in vitro* koşullarda *Alternaria brassicicola* etmenine karşı etkilerinin belirlenmesi. *Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1), 1-8. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2469278>
- Baydar, H., Altındal D., & Karadogan T. (2009). Effects of volatile oils on sprout growth in potato. *Suleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13, 137-141.
- Bisht, D., Saroj, A., Durgapal, A., Chanotiya, C. S., & Samad, A. (2021). Inhibitory effect of cinnamon (*Cinnamomum tamala* (Buch.-Ham.) T. Nees & Eberm.) essential oil and its aldehyde constituents on growth and spore germination of phytopathogenic fungi. *Trends in Phytochemical Research*, 5(2), 62-70.
- Boyd, A.E.W. (1972). Potato storage diseases. *Review of Plant Pathology*, 51, 297-321
- Boumar, R., Krimat, S., Boureghda, H., & Dob, T. (2020). Chemical analyses, antioxidant and antifungal effects of oregano and thyme essential oils alone or in combination against selected *Fusarium* species. *International Food Research Journal*, 27(1), 66-77.
- Bozhüyük, A. U., Kordali, Ş., & Bölük, G. (2015). Satureja hortensis L. uçucu yağının antifungal etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46(2), 107-112.
- Camele, I., Altieri, L., De Martino, L., De Feo, V., Mancini, E., & Rana, G. L. (2012). In vitro control of post-harvest fruit rot fungi by some plant essential oil components. *International Journal Of Molecular Sciences*, 13(2), 2290-2300. <https://doi.org/10.3390/ijms13022290>
- Chen, Q., Yuan, L., Guan, Z., Yue, F., Han, C., & Fu, M. (2024). Screening of plant essential oils as potato sprout suppressants at low storage temperature. *Potato Research*, 67(1), 325-338. <https://doi.org/10.1007/s11540-023-09637-5>
- Ćosić, J., Vrandečić, K., Poštić, J., Jurković, D., & Ravlić, M. (2010). In vitro antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. *Poljoprivreda*, 16(2), 25-28.
- Delen, S. (2007). Bazı *Fusarium* türlerinin teşhisini kolaylaştırmaya yönelik bilgisayar programı. Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 149s
- El-Awady, A. A. E. F. (2020). Effect of essential oils on storability and preservation of some vegetable Crops, In Book: El-Shemy, H (ed.). *Essential oils - Oils of Nature*, IntechOpen, London. 10.5772/intechopen.77673
- Gakuubi, M. M., Maina, A.W., & Wagacha, J.M. (2017). Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against Selected *Fusarium sambucinum*. *International Journal of Microbiology*, 8761610. <https://doi.org/10.1155/2017/8761610>
- Ghoneem, K. M., Saber, W. I. A., El-Awady, A. A., Rashad, Y. M., & Al-Askar, A. A. (2016). Alternative preservation method against *Sclerotium tuber rot* of Jerusalem artichoke using natural essential oils, *Phytoparasitica*, 44, 341-352. <https://doi.org/10.1007/s12600-016-0532-3>
- Gómez-Castillo, D., Cruz, E., Iguaz, A., Arroqui, C., & Vírseda, P. (2013). Effects of essential oils on sprout suppression and quality of potato cultivars. *Postharvest Biology And Technology*, 82, 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.017>
- Hanson, L. E., Schwager, S. J., & Loria, R., (1996). Sensitivity to thiabendazole in *Fusarium* species associated with dry rot of potato. *Phytopathology*, 86, 378-384
- Hassan, S., Singh, R., Yadav, A. K., & Kumar, A. (2022). Antifungal effect of some essential oils and seed dressing fungicides against *Fusarium sambucinum* causing dry rot of potato. *Plant Disease Research*, 37(1), 40-45.
- Jadoa, H. N., & Ibade, K. W. (2023). Efficiency of rosemary *Rosmarinus officinalis* and chitosan in controlling the damping off pathogen, *fusarium* spp., identified morphologically and molecularly. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 1262, (3), 032017. IOP Publishing.
- Kowalska, J., Tyburski, J., Matysiak, K., Jakubowska, M., Łukaszyk, J., & Krzyńska, J. (2021). Cinnamon as a useful preventive substance for the care of human and plant health. *Molecules*, 26(17), 5299. <https://doi.org/10.3390/molecules26175299>
- Little, G., Marquinez, R., & Cooke, L.R., (1988). The response of twelve potato cultivars to infection with *Rhizoctonia solani*. Tests of Agrochemicals and Culivars 9. *Annals of Applied Biology*, 112, 88-89.
- Massoud, M. A., Saad, A. S. A., Soliman, E. A., & El-Moghazy, A. Y. (2012). Antifungal activity of some essential oils applied as fumigants against two stored grains fungi. *Journal of the Advances in Agricultural Researches*, 17(2), 296-306. <https://doi.org/10.3390/molecules26175299>

- Morkeliūnė, A., Rasiukevičiūtė, N., Šernaitė, L., & Valiuškaitė, A. (2021). The use of essential oils from thyme, sage and peppermint against *Colletotrichum acutatum*. *Plants*, 10(1), 114. <https://doi.org/10.3390/plants10010114>
- Mosciano, G. (2005). Organoleptic characteristics of flavor materials: grapefruit, lemon, lime, clementine oil and beyond. *Perfumer & flavorist*, 30(1), 76-81
- Nohutçu, L., Şelem, E., Tunçtürk, R., & Tunçtürk, M. (2021). Yayın Yılı. Uçucu yağların tarımsal hastalık ve zararlılara karşı kullanımı. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(2), 499-523
- Oktay, E., & Artık, N. (2021). Nane Yağı ve Karanfil Yağı Uygulamasının Depolanan Patateslerde Filizlenmeye Etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (22), 357-363.
- Osman Mohamed Ali E., Shakil, N.A., Rana, V.S., Sarkar, D.J., Majumder, S., & Kaushik, P. (2017). Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. *Industrial Crops and Products*, 10, 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.061>
- Paramanik, P. K., & Mandal, N. C. (2016). Dry rot of potato (co *Fusarium oxysporum* Schlecht) and its management by essential oils. *Journal of Mycopathological Research*, 54(2), 225-228
- Rangsuwan S., Rattanakreetakul C., & Pongpisutta R. (2021). Competency of clove and cinnamon essential oil fumigation against toxigenic and atoxigenic *Aspergillus flavus* Isolates. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(3), 1325-1337. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.23>
- Pina-Vaz, C., Gonçalves Rodrigues, A., Pinto, E., Costa-de-Oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Gonçalves, M.J., & Martinez-de-Oliveira, J. (2004): Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 18, 73–78.
- Read, P.J., Hide, G .A., Firmager, J.P., & S.M. Hall. (1989). Growth and yield of potatoes as affected by severity of stem canker (*Rhizoctonia solani*). *Potato Research*, 32, 9-15.
- Rostad, C.E., & Pereira, W.E. (1986). Kovats and Lee retention indices determined by gas chromatography/mass spectrometry for organic compounds of environmental interest. *Journal of High Resolution Chromatography*, 9, 328-334. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240090603>.
- Sanlı, A., & Karadoğan, T. (2019). Carvone containing essential oils as sprout suppressants in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers at different storage temperatures. *Potato Research*, 3, 345–360. <https://doi.org/10.1007/s11540-019-9415-6>
- Saroj, A., Chanotiya, C. S., Maurya, R., Pragadheesh, V. S., Yadav, A., & Samad, A. (2019). Antifungal action of Lippia alba essential oil in *Rhizoctonia solani* disease management. *SN Applied Sciences*, 1, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1207-8>
- Secor, G.A., & Salas, B. (2001). Fusarium dry rot and Fusarium wilt. In: Stevenson WR, Loria R, Franc GD, Weingartner DP (editors). *Compendium of Potato Diseases*. St. Paul, MN, USA: APS Press, pp. 23-25
- Sivrikaya, I. S., Tosun, B., & Karakaya, E. (2021). *Origanum onites* L. ve *Rosmarinus officinalis* L. uçucu yağlarının kimyasal içerikleri ve *Fusarium solani*'ye karşı antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(2), 329-335. <https://doi.org/10.30910/turkjans.825090>
- Townsend, G.K., & Heuberger, J.W. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report*, 27: 340-343.
- TÜİK, (2024). <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2023-49535> (Erişim Tarihi: 28.09.2024)
- Türkkan, M., Çalışkan, Ö., Erper, İ., Kara, Ş. M., & Açıkgöz, M. A. (2020). Bazı toprak kökenli funguslara karşı defne esansiyel yağı ve hidrosölünün antifungal etkilerinin belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(2), 217-226. <https://doi.org/10.29278/azd.476209>
- Wharton, P., Hammerschmidt, R., & Kirk, W. (2007). Fusarium dry rot. Michigan State University. *Extension Bulletin E-2992*. East Lansing, Michigan.
- Woodhall, J.W., Lees, A.K., Edwards, S.G., & Jenkinson P. (2007). Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain. *Plant Pathology*, 56, 286–295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01545.x>
- Yeole, G. J., Teli, N. P., Kotkar, H. M., & Mendki, P. S. (2014). *Cinnamomum zeylanicum* extracts and their formulations control early blight of tomato. *Journal of Biopesticides*, 7(2), 110.
- Yıkılmazsoy, G., & Tosun, N. (2021). Characterization of *Fusarium sambucinum* isolates associated with potato dry rot and evaluation of cultivar susceptibility and fungicides. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(2), 222-233. <https://doi.org/10.3906/tar-2006-100>
- Yılar, M., Kadioglu, I., & Telci, I. (2018). Chemical composition and antifungal activity of *Salvia officinalis* (L.), *S. cryptantha* (Montbret Et Aucher Ex Benth.), *S. tomentosa* (Mill.) plant essential oils and extracts. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(3), 1695-1706

Yücel, D., & Oğuz, H. I. (2020). Nevşehir ilinde patates (*Solanum tuberosum* L.) yetiştiriciliğinin ekolojik ve sosyo ekonomik bakımdan araştırılması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(4),1159-1170
<https://doi.org/10.30910/turkjans.727903>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International License.



Maş Fasulyesi (*Vigna radiata* L.) Tohumlarında *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) Zararı Üzerine Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) Uçucu Yağının Etkisi

Zühranur ALDEMİR¹  Ruziye KARAMAN²  Cengiz TÜRKAY²  Ali Kemal BİRGÜCÜ¹ 

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

² Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Öz

Çalışmada rezene uçucu yağının *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae)'a ve maş fasulyesi tohumlarına etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, rezene uçucu yağının 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 20 µL/L olmak üzere 6 farklı dozu ve zararlının yumurtaları ile farklı bulaşıklık düzeylerindeki maş fasulyesi tohumları kullanılmıştır. Denemelere tohumlardan tüm böceklerin çıkışı tamamlanana kadar devam edilmiştir. Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların filiz uzunlukları temiz tohumda 6.77 cm, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 6.42 cm, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 5.99 cm, kök uzunlukları temiz tohumda 5.68 cm, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 6.59 cm, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 6.02 cm bulunmuştur. Filiz yaş ve kuru ağırlıkları; kuru tohum uygulamasında sırasıyla 2.42, 0.38 mg iken 12.5 µL/L doz uygulamasında 1.07 ve 0.58 mg olmuştur. Kök yaş ve kuru ağırlıkları ise ağırlıkları; kuru tohum uygulamasında 0.68 ve 0.14 mg iken 12.5 µL/L doz uygulamasında 0.20 ve 0.06 mg bulunmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre rezene uçucu yağının zararlının popülasyonunun artışı üzerine etkisinin olabileceği görülmüştür. Uçucu yağların depo zararlılarına karşı kullanılmasına yönelik yapılacak ileri araştırmalar, bunların zararlılarla mücadelede kullanılabilme ihtimalini arttıracaktır. Ayrıca bitkisel kökenli uçucu yağların çevre ve insan sağlığı açısından yan etkilerinin olup olmadığının belirlenmesi adına birçok araştırmaların yürütülmesi gerekmektedir.

Article Info

Received: 23.10.2024

Accepted: 28.11.2024

Anahtar Kelimeler

Börülce tohum böceği
Maş fasulyesi
Rezene
Uçucu yağ
Çimlenme özellikleri

The Effect of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Essential Oil on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) Damage in Mung Bean (*Vigna radiata* L.) Seeds

Abstract

The aim of this study was to explore the effects of fennel essential oil on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) and mung bean seeds. For this purpose, fennel oil was diluted and 6 different concentrations of 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, and 20 µL/L were prepared. In addition, mung bean seeds with different levels of contamination with the eggs of the pest were used. The experiments were continued until all insects emerged from the seeds. Sprout lengths of germinated seeds according to different contamination levels were found to be 6.77 cm for clean seed, 6.42 cm for 1-3 egg contamination, 5.99 cm for 4-6 egg contamination, 5.68 cm for clean seed, 6.59 cm for 1-3 egg contamination and 6.02 cm for 4-6 egg contamination. According to the results obtained in this study, fennel oil may have an effect on the increase of the pest population. Research on the extraction of essential oils in pure form and their subsequent use against stored product pests will increase the potential for the use of essential oils in pest control. In addition, more research should be conducted to determine whether essential oils of plant origin have adverse effects on the environment and human health.

Keywords

Cowpea weevil
Mung bean
Fennel
Essential oil
Germination properties



Corresponding Author
alibirgucu@isparta.edu.tr

Giriş

Maş fasulyesi, Leguminosae familyasına bağlı Papilionoideae alt familyasının *Vigna* cinsine dâhil olup, *Ceratotropis* (*Piper*) Verdc. alt cinsine ait olduğu bilinmektedir (Lawn ve Russell, 1978). Dünya'da maş

fasulyesi ekim alanı yaklaşık 7.3 milyon ha, ortalama verimi 721 kg/ha ve 5.3 milyon ton üretilmekle birlikte, Hindistan ve Myanmar bu üretimin %30'unu oluşturmaktadır (Nair ve Schreinemachers, 2020). TÜİK verilerine göre Türkiye'de 2020 yılında toplamda 621.2 ton maş fasulyesi ithalatı yapılmıştır. Bunun yanında ülkemizde yapılan maş fasulyesi yetiştiriciliği ile 2020 yılında 68.3 ton ihracat yapılarak 790.6 bin TL ekonomimize katkı sağladığı belirlenmiştir (Anonim, 2020). TÜİK'in 2023 yılı verilerine göre de Türkiye'de yaklaşık 1.300 ton maş fasulyesi üretimi yapılmıştır (Anonim, 2023).

Maş fasulyesi tek yıllık otsu bir bitkidir. Dik ve yarı dik büyüeyebilen maş fasulyesi 25-125 cm boylanabilen küçük yapılı, dallı ve kısa tüylü bir bitkidir. Ayrıca tohumları düz, parlak veya donuk olabilmekte ve 100 tane ağırlığı 2-8 g arasında değişmektedir (Oplinger vd., 1990). Maş fasulyesi tohumları, yemeklik olarak ve tahıl ağırlıklı diyetlerle beslenen ülkelerde protein kaynağı olarak tüketilmektedir. Bozoğlu ve Topal (2005), tohumlarının bir bütün şeklinde kurutulup ya da parçalandıktan sonra pişirilip fermente edildikten sonra kavurularak ya da değirmende un haline getirilip kullanıldığını bildirmişlerdir. Ayrıca, maş fasulyesinin tohumları ve kökleri alternatif tıpta kullanılmaktadır. Çin'de tohumları kabızlık, dizanteri, düşük tedavisi, böbrek rahatsızlığı, çiçek hastalığı ve sebze zehirlenmesinde (antitoksik) ve kökleri de pansuman yapımında kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten, hayvan yemi, yeşil gübre, filiz ve sebze olarak da kullanılmaktadır. Filizlerinin özellikle thiamin, riboflavin, niasin, askorbik asit içeriği yüksek olup hem çiğ hem de pişirilerek tüketilmektedir. Bazı araştırmacılar, yaptıkları çalışmalarda maş fasulyesindeki belirli proteinlerin antifungal, antibakteriyel, antioksidant, antimikrobiyal ve insektisidal özellikleri nedeniyle farklı alanlarda kullanıldığını da görmüştür (Brounce, 2002; Madhujith vd., 2004; Wang vd., 2004).

Maş fasulyesi, tarımsal ihracat ve ithalatımızda önemli bir yer tutmakla birlikte, ürün kaybına yol açan hastalıklar, zararlılar ve yabancı ot türlerine de maruz kalmaktadır. Maş fasulyesi, ekonomik anlamda ürün kayıplarına neden olan birçok hastalık, zararlı ve yabancı ot türlerine konukçuluk etmektedir. Baklagillerde zararlı bir tohum böceği olan *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) ülkemizde yaygın olarak Bakla tohum böceği olarak bilinmektedir. Tarla koşullarında maş fasulyesi baklalarında zarara neden olan bu chrysomelid, aynı zamanda önemli bir depo zararlısıdır (Baidoo vd., 2010).

Callosobruchus maculatus, hasattan önce bürünceleri istila etmekte, depoda ise ayda bir nesil vererek hızla çoğalmaktadır. Depolardaki baklagillerde 3-4 ay içinde bulaşma oranı %50'den daha fazla olmaktadır (Baidoo vd., 2010). Bulaştıkları üründe beslenmeleri sonucunda, üründe kilo kayıpları, tohumluk niteliklerinde azalma, nicelik ve besin değeri yönünden olumsuz sonuçlar doğurmakta ve bu durum ticari değerini düşmesine yol açmaktadır (Boxall, 2001; Ofuya vd., 2010). Tohum böceklerinin depo şartlarındaki enfeksiyonu, özellikle tohumlarda ciddi zararlara neden olmaktadır. (Tripathi vd., 2016; Chawe vd., 2019). Depolama koşullarında böcek istilasına maruz kalmış bir tohum, baklagil tohum böceği için bir besin kaynağı olabilmektedir (Samyuktha vd., 2022). Baklagil tohum böceklerinin farklı bakliyat türlerindeki zararı, altı ay içerisinde %30-40 oranlarında değişirken, kontrol edilmediği zamanda ise bu oran %100'lere kadar ulaşabilmektedir (Dongre vd., 1996; Majhi ve Mogali, 2020). Bu zarar tohumun canlılığını etkilemekte ve sonuç olarak da üreticilerden tüketicilere kadar doğrudan ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu sebeple hasat sonrasında meydana gelen zararlar, gelişmekte olan ülkelerde gıda temini yönünden büyük sorunlar oluşturmaktadır (Somta vd., 2007; Ponnusamy vd., 2014; Gosh vd., 2020).

Aromatik yağ, esans yağ, eterik yağ, uçucu yağ ya da ruh gibi farklı isimlerle bilinen bitkisel kökenli uçucu yağlar, bitki yapısında bulunan metabolitlerin önemli bir grubudur (Çelik ve Çelik, 2007). Geleneksel farmakopenin (etkin maddelerin ve ilaçların canlılara tedavi ve koruyucu olarak verilebilmesi için gerekli özelliklerinin yazılı olduğu resmi kitap) önemli bir bölümünü oluşturan uçucu yağlar, daha çok sıcak tropik ülkeler ve ılıman Akdeniz Bölgesi ülkeleri arasındaki coğrafyada yetişen çeşitli aromatik bitkilerden elde edilmektedir (Bakkali vd., 2008). Bu yağlar bitkilerin değişik kısımlarından, genellikle su buharı distilasyonu veya farklı ekstraksiyon yöntemleriyle, elde edilmektedir. Kolayca kristalleşebilme özelliğine sahip olan ve oda sıcaklığında genellikle sıvı formda bulunan bu yağlar, çoğunlukla renksizdir veyahut açık sarı renge ve yağimsı karışımlardır. Buldukları bitkiye kedine has koku ve keskin bir tat kazandıran bu bileşiklerin en belirgin özellikleri, oda sıcaklığında uçucudurlar ve aynı zamanda da koku yayarlar (Anonim, 1994).

Organik çözücülerde çözünmelerine rağmen suda çözünmedikleri için yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklılık gösterirler (Grassmann ve Elstner, 2003). Uçucu yağların bileşimi ve miktarı, bitkinin türüne, hangi kısımdan elde edildiğine, üretim yöntemine, yetiştirildiği bölgenin coğrafi koşullarına ve iklimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Angioni vd., 2006).

Uçucu yağların depo zararlılarına karşı insektisidal etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar son yıllarda büyük bir ivme kazanmıştır (Lee vd., 2004; Karakoç vd., 2006; Rajendran ve Sriranjini, 2008; Chu vd., 2010; Çam vd., 2012). Uçucu yağlar, memeliler için düşük toksisite gösterirken depo zararlıları üzerinde yüksek düzeyde toksisiteye sahiptir ve bitki materyallerinden kolaylıkla buhar distilasyonu yöntemiyle elde edilebilmektedir (Shaaya vd., 1997). Örneğin Taponjdou vd. (2002), *Chenopodium ambrosioides* L. yapraklarından elde edilen uçucu yağın *Acanthoscelides obtectus*, *Callosobruchus chinensis* L., *C. maculatus*, *Prostephanus truncatus* (Horn) ve *Sitophilus granarius*'a fumigant etkisinin oldukça yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Bittner vd. (2008), *Eucalyptus globulus*, *Gomortega keule*, *Laurelia sempervirens*, *Origanum vulgare* ve *Thymus vulgaris* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarının *A. obtectus*'a fumigant etkilerinin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu ve benzeri araştırmalar, uçucu yağlar ve bu yağların bileşenlerinin, zararlılarla mücadelede kullanılan fumigantlara alternatif olabilecek potansiyel kaynaklar olarak ön plana çıkmasını sağlamaktadır.

Rezeneden elde edilen uçucu yağın da estragol ve trans-anetol etken maddelerinin bu zararıya karşı etkili olduğu daha önceki çalışmalarda belirtilmiş ancak maş fasulyesi tohumlarında mücadele sonrası çimlenme ve çimlenme sonrası bitkinin filiz ve kök uzunluğu gibi özellikleri üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışma ile *C. maculatus* ile farklı düzeylerde bulaşmış maş fasulyesi tohumlarına, farklı dozlarda uygulanan rezene yağlarının tohumlardaki böcek popülasyonunun gelişimine ve tohumların çimlenme özelliklerine çimlenme sonrasında bitkinin filiz ve kök uzunluğu ile filiz ve kökün yaş ve kuru ağırlıkları gibi özellikleri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın ana materyali *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae), maş fasulyesi (*Vigna radiata* L.) tohumları ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağıdır.

Burdur ili ve çevresinden temin edilen rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) popülasyonu kullanılarak 2022 yılında yetiştirilmiş rezene bitkilerinden tohumlar elde edilmiş olup, bu tohumlardan çıkarılan yağlar denemede kullanılmıştır. Mikrodalga destekli su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilen bu çalışmada, distilasyon işlemi için 20 gram rezene tartılmış ve üzerine 200 ml saf su (1:10) eklendikten sonra damıtma balonuyla birlikte mikrodalga fırınına (250 V, 50 Hz, 2450 MHz, 800 W) yerleştirilmiş ve 1.45 dk. sonra kaynatma işlemi sonlandırılmıştır (Anonim, 1975). Bu şekilde Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri bölümü laboratuvarında elde edilerek buzdolabında muhafaza edilen rezene uçucu yağı aseton ile seyreltilerek ön denemeler sonucu belirlenen 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 20 µL/L olmak üzere 6 farklı doz hazırlanmıştır. Denemede uygulama yapılmamış (kuru tohum) ve saf su uygulanmış olmak üzere 2 farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Deneme, her bir uygulama 4 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünün Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Ana Bilim Dalının deposundan temin edilen yumurtayla bulaşık tohumlar ayrıştırılarak hiç bulaşıklığın olmadığı tohumlar, 1-3 arası yumurta ile bulaşık tohumlar, 4-6 arası yumurta ile bulaşık tohumlar olmak üzere 3 farklı grup oluşturulmuştur (Tablo 1). Her bir gruptaki her bir tekerrür için kavanozlara ellişer adet maş fasulyesi tohumu konulmuştur. Daha sonra kavanozlara konulan tohumların üzerine el pülverizatörü yardımıyla uçucu yağ püskürtülerek uygulama yapılmıştır. Kavanozların (244 mL hacminde, 57.8 mm çapında, 129.5 mm yüksekliğinde) ağızları tül ile kapatılmıştır. İki günde bir hassas terazi ile gram/miligram cinsinden ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Üzerinde yumurta olan tohumlarda böcek çıkışı olup olmadığı kontrol edilmiştir. Laboratuvarda 26±1°C sıcaklık ve %70±5 orantılı nem koşullarında yürütülen bu denemede, tohumlardan tüm böceklerin çıkışı tamamlanana kadar ağırlık ölçümlerine devam edilmiştir. Daha sonra tohum çimlendirme testi yapılmıştır.

Tablo 1. Denemede kullanılan maş fasulyesi tohumlarının *Callosobruchus maculatus* yumurtası ile bulaşma düzeyleri (Yumurta/Tohum)

Bulaşıklık	C. maculatus yumurtası ile bulaşma düzeyleri*
I. bulaşma düzeyi	Bulaşma yok
II. bulaşma düzeyi	1-3 yumurta ile bulaşık
III. bulaşma düzeyi	4-6 yumurta ile bulaşık

*Yumurta ile bulaşma düzeyleri ön çalışmalarla belirlenmiştir.

Farklı dozlarda oranlarda rezene uçucu yağı uygulanan maş fasulyesi tohumları deneme bittikten sonra çimlendirilerek fide uzunluğu, kök uzunluğu, fide yaş ve kuru ağırlığı ile kök yaş ve kuru ağırlığı gibi özellikleri her tekerrürde 24 adet tohum olacak şekilde 5 tekerrürlü olarak incelenmiştir. Çimlendirme işlemi 21 x 21 cm boyutlarındaki üç adet çimlendirme kâğıdı arasında ve 24±1°C'de tamamen karanlık çimlendirme dolabında yürütülmüştür. Çimlendirme işlemi sırasında her bir çimlendirme kâğıdı için 10 mL saf su eklenmiş ve rulo kâğıtlar buharlaşmayı engellemek için ağzı kilitli poşetlere konulmuştur. Deneme ISTA kurallarına göre 7 gün süreyle yürütülmüş ve her iki günde bir kâğıtlar değiştirilip tekrar 10 ml saf su eklenmiştir. Her gün yapılan sayımlarda 1 mm kökçük uzunluğuna sahip tohumlar çimlenmiş olarak sayılmıştır. Denemenin 7. gününün sonunda elde edilen çimlenme sonuçlarına göre çimlenen tohumlardan her bir tekerrürden tesadüfen seçilen 10 bitkinin kök ve fide özellikleri incelenmiştir (Kaya vd., 2018). Deneme sonunda tesadüf olarak seçilen 10 bitkinin fide uzunluğu ve aynı zamanda kök uzunlukları da milimetrik cetvelle cm olarak ölçülmüştür.

Veri analizi

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre hazırlanmıştır. Bulaşıklılık düzeyleri temiz tohum, *C. maculatus*'un 1-3 adet yumurtasıyla bulaşık tohum ve 4-6 adet yumurtasıyla bulaşık tohum olmak üzere 3 farklı düzey olarak belirlenmiştir.

Denemeden elde edilen verilere göre tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) uygulandıktan sonra Tukey's HSD çoklu karşılaştırma testi yapılarak varsa farklılıkların kaynağı belirlenmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS® (2011) paket programından yararlanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Uygulanan doza göre çimlenen tohumların filiz uzunluğu; kuru tohum uygulamasında 6.50 cm, saf su uygulamasında 7.01 cm, 2.5 µL/L doz uygulamasında 6.42 cm, 5 µL/L doz uygulamasında 6.96 cm, 7.5 µL/L doz uygulamasında 6.12 cm, 10 µL/L doz uygulamasında 6.71 cm, 12.5 µL/L doz uygulamasında 4.67 cm, 20 µL/L doz uygulamasında 6.74 cm bulunmuştur. Tüm uygulama grupları istatistiksel olarak 7.5 µL/L doz uygulanan tohum grubu haricinde aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Uygulanan doza göre çimlenen tohumların kök uzunluğu; kuru tohum uygulamasında 8.05 cm, saf su uygulamasında 7.84 cm, 2.5 µL/L doz uygulamasında 7.56 cm, 5 µL/L doz uygulamasında 5.40 cm, 7.5 µL/L doz uygulamasında 5.07 cm, 10 µL/L doz uygulamasında 5.63 cm, 12.5 µL/L doz uygulamasında 4.93 cm, 20 µL/L doz uygulamasında 4.30 cm bulunmuştur. Kuru tohum ve saf su uygulanan tohumların çimlenen kök uzunluklarının ortalama değerleri istatistiksel olarak aynı grupta yer alırken; 5, 7.5, 12.5 ve 20 µL/L doz uygulanan tohum gruplarının çimlenen köklerinin uzunluklarının ortalamaları da ayrı bir istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı dozlarda rezene uçucu yağı uygulanan maş fasulyesi tohumlarında gözlenen *Callosobruchus maculatus*'un gelişen birey sayısı ve bu tohumların çimlendirilmesiyle elde edilen filiz ve kök uzunluğu (cm)*

Doz	Filiz Uzunluğu	Kök Uzunluğu	Birey Sayısı
Kuru tohum	6.50 ± 0.37 a	8.05 ± 0.47 a	5.14 ± 0.35 a
Saf Su	7.01 ± 0.37 a	7.84 ± 0.47 a	4.54 ± 0.33 a
2.5 µL/L	6.42 ± 0.37 a	7.56 ± 0.47 ab	0.79 ± 0.12 b
5 µL/L	6.96 ± 0.37 a	5.40 ± 0.47 c	0.11 ± 0.02 bc
7.5 µL/L	6.12 ± 0.37 ab	5.07 ± 0.47 c	0.12 ± 0.03 bc
10 µL/L	6.71 ± 0.37 a	5.63 ± 0.47 bc	0.00 ± 0.00 c
12.5 µL/L	4.67 ± 0.37 b	4.93 ± 0.47 c	0.26 ± 0.05 bc
20 µL/L	6.74 ± 0.37 a	4.30 ± 0.47 c	0.00 ± 0.00 c

*Aynı harfleri taşıyan aynı sütundaki ortalamalar (±standart hatalar) arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsizdir (Tukey's HSD test, p>0.05; n=10).

Uygulanan doza göre çimlenen tohumların filiz yaş ağırlıkları; kuru tohum uygulamasında 2.42 mg, saf su uygulamasında 1.90 mg, 2.5 µL/L doz uygulamasında 1.86 mg, 5 µL/L doz uygulamasında 1.41 mg, 7.5 µL/L doz uygulamasında 1.44 mg, 10 µL/L doz uygulamasında 1.38 mg, 12.5 µL/L doz uygulamasında 1.07 mg, 20 µL/L doz uygulamasında 1.38 mg bulunmuştur. Saf su ve 2.5 µL/L doz uygulanan tohumların çimlenen filiz yaş ağırlıklarının ortalama değerleri istatistiksel olarak aynı grupta yer alırken 5, 7.5, 10 ve 20 µL/L doz uygulanan tohum gruplarının çimlenen filiz yaş ağırlıklarının ortalamaları da ayrı bir istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır. Kuru tohumlar da ayrı bir grupta yer alırken 12.5 µL/L doz uygulanan tohumlar da ayrı bir istatistiksel grupta yer almıştır (Tablo 3).

Uygulanan doza göre çimlenen tohumların filiz kuru ağırlıkları; kuru tohum uygulamasında 0.38 mg, saf su uygulamasında 0.29 mg, 2.5 µL/L doz uygulamasında 0.51 mg, 5 µL/L doz uygulamasında 0.21 mg, 7.5 µL/L doz uygulamasında 0.25 mg, 10 µL/L doz uygulamasında 0.58 mg, 12.5 µL/L doz uygulamasında 0.27 mg, 20 µL/L doz uygulamasında 0.36 mg bulunmuştur. Kuru tohum ve saf su, 12.5 ve 20 µL/L doz uygulanan tohumların çimlenen filiz kuru ağırlıklarının ortalama değerleri istatistiksel olarak aynı grupta yer alırken 2.5 ve 10 µL/L doz uygulanan tohum gruplarının çimlenen filiz kuru ağırlıklarının ortalamaları da ayrı bir istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır (Tablo 3). Uygulanan doza göre çimlenen tohumların kök yaş ağırlıkları; kuru tohum uygulamasında 0.68 mg, saf su uygulamasında 0.52 mg, 2.5 µL/L doz uygulamasında 0.46 mg, 5 µL/L doz uygulamasında 0.31 mg, 7.5 µL/L doz uygulamasında 0.27 mg, 10 µL/L doz uygulamasında 0.30 mg, 12.5 µL/L dozu uygulamasında 0.20 mg, 20 µL/L doz uygulamasında 0.25 mg bulunmuştur. 7.5, 10, 12.5 ve 20 µL/L doz uygulanan tohum gruplarının çimlenen köklerinin yaş ağırlıkları ortalamaları aynı istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 3). Uygulanan doza göre çimlenen tohumların kök kuru ağırlıkları; kuru tohum uygulamasında 0.14 mg, saf su uygulamasında 0.05 mg, 2.5 µL/L doz uygulamasında 0.06 mg, 5 µL/L doz uygulamasında 0.03 mg, 7.5 µL/L doz uygulamasında 0.03 mg, 10 µL/L doz uygulamasında 0.04 mg, 12.5 µL/L doz uygulamasında 0.02 mg, 20 µL/L doz uygulamasında 0.04 mg bulunmuştur. Kuru tohum, saf su uygulaması ve tüm doz uygulamalarındaki tohuma gruplarının çimlenen köklerinin kök kuru ağırlıkları ortalamaları aynı istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 3).

Tablo 3. Farklı dozlarda rezene uçucu yağı uygulanan maş fasulyesi tohumlarında gözlenen *Callosobruchus maculatus*'un gelişen birey sayısı ve bu tohumların çimlendirilmesiyle elde edilen filizlerin yaş ağırlığı, filiz kuru ağırlığı, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı (mg)*

Doz	Filiz Yaş Ağırlık	Filiz Kuru Ağırlık	Kök Yaş Ağırlık	Kök Kuru Ağırlık	Birey Sayısı
Kuru tohum	2.42 ± 0.05 a	0.38 ± 0.03 bcd	0.68 ± 0.03 a	0.14 ± 0.03 a	5.14 ± 0.35 a
Saf Su	1.90 ± 0.05 b	0.29 ± 0.03 bcd	0.52 ± 0.03 b	0.05 ± 0.03 a	4.54 ± 0.33 a
2.5 µL/L	1.86 ± 0.05 b	0.51 ± 0.03 a	0.46 ± 0.03 bc	0.06 ± 0.03 a	0.79 ± 0.12 b
5 µL/L	1.41 ± 0.05 c	0.21 ± 0.03 d	0.31 ± 0.03 cd	0.03 ± 0.03 a	0.11 ± 0.02 bc
7.5 µL/L	1.44 ± 0.05 c	0.25 ± 0.03 cd	0.27 ± 0.03 d	0.03 ± 0.03 a	0.12 ± 0.03 bc
10 µL/L	1.38 ± 0.05 c	0.58 ± 0.03 a	0.30 ± 0.03 d	0.04 ± 0.03 a	0.00 ± 0.00 c
12.5 µL/L	1.07 ± 0.05 d	0.27 ± 0.03 bcd	0.20 ± 0.03 d	0.02 ± 0.03 a	0.26 ± 0.05 bc
20 µL/L	1.38 ± 0.05 c	0.36 ± 0.03 bcd	0.25 ± 0.03 d	0.04 ± 0.03 a	0.00 ± 0.00 c

*Aynı harfleri taşıyan aynı sütundaki ortalamalar (±standart hatalar) arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsizdir. (Tukey's HSD test, p>0.05; n=10).

Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların filiz uzunlukları; temiz tohumda 6.77 cm, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 6.42 cm, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 5.99 cm bulunmuştur. Her bir bulaşıklık düzeyi farklı bir istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır. Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların kök uzunlukları; temiz tohumda 5.68 cm, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 6.59 cm, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 6.02 cm bulunmuştur. Her bulaşıklık düzeyi aynı istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 4).

Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların filiz yaş ağırlıkları; temiz tohumda 1.52 mg, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 1.81 mg, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 1.49 mg bulunmuştur. Temiz tohumların ve 4-6 yumurta ile bulaşık tohumların bulaşıklık düzeyleri aynı istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 5).

Tablo 4. Farklı bulaşıklık düzeylerinde incelenen maş fasulyesi tohumlarında gözlenen *Callosobruchus maculatus*'un gelişen birey sayısı ve bu tohumların çimlendirilmesiyle elde edilen filiz ve kök uzunluğu (cm)*

Bulaşıklık	Filiz Uzunluğu	Kök Uzunluğu	Birey Sayısı
Temiz tohum	6.77 ± 0.22 a	5.68 ± 0.29 a	0.00 ± 0.00 c
1-3 yumurta	6.42 ± 0.22 ab	6.59 ± 0.29 a	1.71 ± 0.11 b
4-6 yumurta	5.99 ± 0.22 b	6.02 ± 0.29 a	2.40 ± 0.17 a

*Aynı harfleri taşıyan aynı sütündeki ortalamalar (±standart hatalar) arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsizdir (Tukey's HSD test, p>0.05; n=24).

Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların filiz kuru ağırlıkları; temiz tohumda 0.23 mg, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 0.46 mg, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 0.39 mg bulunmuştur. Her bir bulaşıklık düzeyi farklı bir istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 5). Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların kök yaş ağırlıkları; temiz tohumda 0.35 mg, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 0.42 mg, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 0.35 mg bulunmuştur. Her bulaşıklık düzeyi aynı istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 5). Farklı bulaşıklık düzeyine göre çimlenen tohumların kök kuru ağırlıkları; temiz tohumda 0.04 mg, 1-3 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 0.08 mg, 4-6 yumurta ile bulaşıklık düzeyinde 0.04 mg bulunmuştur. Her bulaşıklık düzeyi aynı istatistiksel grup içerisinde yer almaktadır (Tablo 5).

Tablo 5. Farklı bulaşıklık düzeylerinde incelenen maş fasulyesi tohumlarında gözlenen *Callosobruchus maculatus*'un gelişen birey sayısı ve bu tohumların çimlendirilmesiyle elde edilen filizlerin yaş ağırlığı, filiz kuru ağırlığı, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı (mg)*

Bulaşıklık	Filiz Yaş Ağırlık	Filiz Kuru Ağırlık	Kök Yaş Ağırlık	Kök Kuru Ağırlık	Birey Sayısı
Temiz tohum	1.52 ± 0.03 b	0.23 ± 0.02 c	0.35 ± 0.02 a	0.04 ± 0.02 a	0.00 ± 0.00 c
1-3 yumurta	1.81 ± 0.03 a	0.46 ± 0.02 a	0.42 ± 0.02 a	0.08 ± 0.02 a	1.71 ± 0.11 b
4-6 yumurta	1.49 ± 0.03 b	0.39 ± 0.02 b	0.35 ± 0.02 a	0.04 ± 0.02 a	2.40 ± 0.17 a

*Aynı harfleri taşıyan aynı sütündeki ortalamalar (±standart hatalar) arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsizdir (Tukey's HSD test, p>0.05; n=24).

Bu çalışma, geçmişte gerçekleştirilen araştırmalarla benzer sonuçlar sergilemektedir. Udo ve Epi (2009), yaptıkları bir araştırmada *C. maculatus* erginlerine, *Ricinodendron heudelotii* (Baill) Pierre ex Pax bitkisinin ekstraktlarını farklı çözücüler kullanarak 2 µL/ergin dozunda, değişik uygulama süreleriyle uygulamışlar ve toksisitenin uygulanan doz ve çözücülere göre değişkenlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, su hariç tüm çözücülerde bu bitkinin yüksek derecede değme etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine bu çalışmaya benzer şekilde, Bhaduri vd. (1985), *C. maculatus* erginlerine karşı *Persicaria hydropiper* (L.) bitkisinin yaprak ekstraktların yüksek düzeyde değme etkisinin olduğunu ve bu etkinin uygulama dozuyla doğru orantılı olarak arttığını ileri sürmüşlerdir. Örneğin, Çetin ve Elma (2017), *C. maculatus* erginlerine karşı tarçın *Cinnamomum cassia* (Blume), defne *Laurus nobilis* L., karanfil *Syzygium aromaticum* (L.) ve biberiye *Rosmarinus officinalis* L. bitkilerinin ekstraktlarını kullanmışlardır. Bu çalışmada *Laurus nobilis*'in LC50 ve LC90 değerleri sırasıyla %2.02 ve %33.73; *S. aromaticum*'un ise %3.78 ve %37.20 olduğu tespit edilmiştir. *C. cassia* ve *R. officinalis* ekstraktlarının kontak toksisitesi oldukça az bulunmuştur. Bunun yanında, konsantrasyon artışına bağlı olarak yumurta bırakmayı engelleme oranı yükselmiştir. Bitki ekstraktlarının yumurta bırakmayı engelleme düzeyi %2.50 konsantrasyonda en yüksek *C. cassia* (%43)'da, en düşük *R. officinalis* (%25)'te gözlemlenmiştir. Elma ve Çetin (2022)'in gerçekleştirdiği başka bir çalışmada, biberiye uçucu yağının *C. maculatus*'un yumurta bırakma davranışına etkisi ve erginler üzerindeki toksisitesi incelenmiştir. Denemelerde biberiye uçucu yağının %0.0125, %0.025, %0.05 ve %0.1 olmak üzere dört farklı konsantrasyonu kullanılmıştır. Toksikite denemelerinin sonucunda erginlerdeki LC50 değerleri 24 ve 48 saat sonunda sırasıyla %0.368 ve %0.148 olarak tespit edilmiştir. Biberiye uçucu yağının konsantrasyonu ile dişilerin bıraktığı yumurta sayısı arasında ters orantılı bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Biberiye uçucu yağının kullanılan en yüksek konsantrasyonda %19.11 oranında yumurta bırakmanın engellendiği rapor edilmiştir. Yumurta bırakma yerinin tercihi ile ilgili denemelerde de yine aynı şekilde kullanılan uçucu yağ oranı arttıkça bırakılan yumurta sayısının da azaldığı görülmüştür. Çalışmamıza benzer başka bir araştırmada bazı bitki ekstraktlarının *C. maculatus* üzerindeki kontak toksisiteyi incelenmiştir (Taş vd., 2015). Bu çalışmada sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.), kimyon (*Cuminum cyminum* L.), anason (*Pimpinella anisum* L.) ve kekik (*Origanum onites* L.) bitkilerinden elde edilen metanol ekstraktlarının C.

maculatus erginlerindeki kontak toksisiteyi araştırılmıştır. Kontak toksisite testlerinde, *C. maculatus* erginlerine %1, %2, %4, %8 ve %16'lık ekstrakt dozları uygulanmıştır. En yüksek ölüm oranı (%98.21) 48 saatlik uygulama süresinde kimyon ekstraktının %16'lık dozunda belirlenmiştir. Ölüm oranları bitki ekstraktlarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Bitki ekstraktlarının *C. maculatus* erginlerine karşı değme etkisini 48 saat boyunca incelediğimizde, tüm ekstraktların dozlara göre ortalamalarına yani esas dozun etkisine bakıldığında, uygulama dozunun artışıyla birlikte ergin ölüm oranlarında istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Börülce tohum böceği üzerinde adaçayı (*Salvia officinalis* L.), defne (*Laurus nobilis* L.), lavanta (*Lavandula angustifolia* L.), Origanum (*Origanum syriacum* L.) ve rezene (*Foeniculum vulgare*) bitkisel ekstraktlarının fümigant insektisidal aktivitelerinin incelendiği bir başka çalışmada, tüm uçucu yağların 30.0 ve 40.0 µg/mL hava konsantrasyonlarının *C. maculatus* erginleri üzerinde %100 ölümlere sebep olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağların insektisit etkinliği, artan konsantrasyonlarla birlikte yükseliş göstermiştir (Kaya vd., 2018). Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) uçucu yağının *C. maculatus*'un ergin öncesi ve ergin dönemindeki bireylerine karşı fümigant etkisi, yumurta ve larva dönemi için 10, 20, 30, 40 ve 50 µL/L; pupa dönemi için 20, 30, 40, 50, 60 µL/L; ergin dönemi için ise 10, 15, 20 ve 25 µL/L dozlarında kullanılarak araştırılmıştır. Zararının tüm biyolojik dönemlerine 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca uçucu yağ buharı uygulaması yapılmıştır. Uçucu yağ buharına maruz kalma süreleri ve uygulanan dozların artmasıyla birlikte, böceğin tüm biyolojik dönemlerindeki ölümlerinde bir artış gözlemlenmiş ve maruz kalma süreleri uzadıkça, en yüksek ölümlerin gerçekleştiği dozlarda da azalma olduğu belirlenmiştir (Güdek ve Çetin, 2016; Çetin ve Güdek, 2020).

Heydarzade ve Moravvej (2012)'in gerçekleştirdikleri bir çalışmada; *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) ve *Teucrium polium* L. (Lamiaceae)'den ekstrakt edilen uçucu yağların değme ve kalıntı etkisi *C. maculatus* erginlerine karşı araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, yetişkinlerin ölüm oranının doz ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Erkek bireylerin dişi bireylere kıyasla uçucu yağlara daha duyarlı olduğu görülmüştür. *C. maculatus* erginlerine karşı en toksik olan ekstraktların 390.38 (dişi bireyler için) ve 513.46 µL/m² (erkek bireyler için) LC₅₀ değerleri ile *F. vulgare* uçucu yağının olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında, *S. hortensis* uçucu yağının *C. maculatus* erginlerine karşı LC₅₀ değeri 535.69 (dişi bireyler için) ve 640.99 µL/m² (erkek bireyler için) ve *T. polium* uçucu yağının LC₅₀ değeri ise 1263.09 (dişi bireyler için) ve 1469.72 µL/m² (erkek bireyler için) olarak belirlenmiştir. Bu şekilde *S. hortensis* uçucu yağının, *T. polium*'dan elde edilen yağa kıyasla daha toksik olduğu görülmüştür. İğdir ilinden toplanan Lamiaceae familyasına bağlı *Salvia* cinsinden bazı bitkilerin toprak üstü aksamından elde edilen uçucu yağların önemli depo zararlısı olan *C. maculatus*, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831), *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) ve *Tribolium confusum* (Jacquelin du Val, 1861)'un ergin dönemlerine karşı fumigant etkileri araştırılmıştır. *Salvia* türlerinden (*Salvia hydrangea* DC. Ex Bentham, *S. nemorosa* L. ve *S. verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Frey. & Bornm.) Bornm.) elde edilen uçucu yağlar 5, 10 ve 15 µL/petri dozlarda uygulama yapılarak 12, 24, 48, 72 ve 96 saat içinde LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri tespit edilmiştir. Bulgular neticesinde *Salvia* cinsine bağlı bitkilerden elde edilen uçucu yağların toksisite düzeyleri uygulamam yapılan böceğin türüne ve konukçu bitkinin çeşidine, uygulanan doza ve uygulama sonrası geçen zamana bağlı olarak değişiklik göstermiş, en fazla etkiyi *S. hydrangea* türünün uçucu yağı göstermiştir (Yiğit vd., 2023). Yine İğdir'dan alınmış Lamiaceae familyasına ait *Thymus sipyleus* (Boiss) subsp. *rosulans* (Borbis) Jalas ve *Mentha longifolia* (Hudson) subsp. *longifolia* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların Ekin kambur biti, *Rhyzopertha dominica* (F.), Testereli böcek, *Oryzaephilus surinamensis* (L.), Küçük kırma biti, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), Börülce tohum böceği, *C. maculatus* ve Kırma biti, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val'un ergin dönemlerine karşı fumigant etkileri araştırılmıştır. Bahsedilen bu bitkilerden elde edilen yağlar 5, 10 ve 15 µL/petri dozlarda hazırlanarak 12, 24, 48, 72 ve 96 saat içinde LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri tespit edilmiştir. Veriler sonucunda, (LC₅₀ ve LC₉₀) değerine kıyasla en az toksisite *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağı için (LC₅₀ 1.1555 µL/böcek ve LC₉₀ 4.567) *O. surinamensis* erginleri üzerinde tespit edilirken, her iki bitkinin uçucu yağının diğer çeşit ve dozların toksisiteye neden oldukları rapor edilmiştir (Akkuş vd., 2021). Moravvej vd. (2010), *Citrus limon* (Linnaeus, 1753) ve *C. reticulata* (Blanco, 1837) (Rutaceae) meyvelerinin kabuklarından elde edilen uçucu yağların *C. maculatus* üzerindeki etkisi incelemiştirlerdir. Elde edilen bulgular, *Citrus*

kabuklarından elde edilen bu uçucu yağların böceklerin ergin dönemindeki bireylere fumigant etkisinin yüksek olduğunu göstermiştir. Yağ konsantrasyonu arttıkça veya uygulama süresi uzadıkça 1 veya 2 günlük erginlerde görülen ölüm oranlarının da yükseldiği görülmüştür. *C. reticulata*'nın uçucu yağı, hem 24 saat LC₅₀ (33 ve 45 µL/L, sırasıyla) hem de 24 saat LC₉₀ (75 ve 99 µL/L, sırasıyla) hesaplamalarına göre *C. limon*'a kıyasla yüksek derecede daha toksik olduğu sonucuna varılmıştır. *Foeniculum vulgare* (Rezene) bitkisinden elde edilen uçucu yağın fumigant etkisinin, *Lavandula stoechas* (karabaşotu), *Thymbra spicata* (Karabaş Kekigi), *Teucrium polium* (Adi yavşanotu), *Heracleum platytaenium* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlara kıyasla Fasulye Tohum Böceği, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) üzerine daha fazla olduğu raporlanmıştır (Selimoğlu vd., 2015). Tek doz (100 µL/L) üzerinden yapılan bu çalışmada doz-etki denemeleri neticesinde LC₅₀ değerleri *F. vulgare* için 22.3 µL/L, *T. spicata* için 32.4 µL/L ve *L. stoechas* için 46.3 µL/L olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ise, rezene uçucu yağının *C. maculatus* erginleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda daha ileri çalışmalara temel oluşturacak bulgular elde edilmiştir.

Sonuç

Çalışmada, baklagil tohumlarında önemli zararlara neden olan ve mücadele edilmemesi durumunda büyük kayıplara neden olabilecek bir zararlı olan *Callosobruchus maculatus*'a karşı mücadelede kimyasal ilaçlara alternatif olarak rezene uçucu yağının kullanılabilme olanağı araştırılmıştır. Bu amaçla, rezene uçucu yağının 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 20 µL/L dozları; *C. maculatus*'un yumurtasıyla bulaşık tohumlara uygulanmıştır. Temiz tohum, 1-3 ve 4-6 yumurta ile bulaşıklık olmak üzere 3 farklı bulaşıklık düzeylerindeki tohumlar kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 20 µL/L dozu uygulanan tohumlarda böcek sayısı en azdır. Yapılan çalışma ile *C. maculatus*'a karşı mücadelede rezene uçucu yağının kimyasal ilaçlara alternatif olarak kullanılabilme potansiyelinin daha detaylı çalışmalarla arttırılabileceği düşünülmüştür. Çalışma sonucunda rezene uçucu yağının böcek sayısına etki ettiği tespit edilmiştir. Uygulanan dozların dozu arttıkça böcek sayısının azaldığı belirlenmiştir. Bunun yanında yumurta ile bulaşıklığın fazla olması maş fasulyesinde filiz özelliklerini olumsuz yönde etkilemiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, daha ileri çalışmalar için temel veri ihtiyacını karşılayacağı düşünülmektedir. Uçucu yağların farklı bileşenleri elde edilerek depolanmış ürün zararlılarına karşı formülasyon haline getirilip kullanımına yönelik çalışmalar uçucu yağların potansiyellerinin anlaşılmasında faydalı olacaktır. Ayrıca bitkisel kökenli uçucu yağların çevre ve insan sağlığına etkilerinin de bilimsel çalışmalarla ortaya konulması göz ardı edilmemesi gereken konulardandır.

Yazar Katkı Oranları

Z. ALDEMİR; Araştırma, veri temini, orijinal taslak yazımı, R. KARAMAN; kaynak, malzeme temini, metodoloji, denetim, C. TÜRKAY; malzeme temini, denetim, gözlem, tavsiye, A. K. BİRGÜCÜ; araştırma, doğrulama, metodoloji, istatistiksel analiz, inceleme ve düzenleme, biçimsel analiz, görselleştirme.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bu çalışmanın yazarları olarak beyan ederiz.

Etik Kurul Onayı

Herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bu çalışmanın yazarları olarak bildiririz

Kaynaklar

- Akkuş, S., Gözüaçık, C., & Gültekin, L. (2021). *Thymus sipyleus* (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbás) Jalas ve *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) ait uçucu yağların bazı depolanmış ürün zararlılarına karşı fumigant etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(4), 2487-2497.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4364-4370.

- Anonim, (1975). European Pharmacopoeia Commission, Maisonneuve 1975, Series: European treaty series, no. 50. Edition.
- Anonim, (1994). Türkiye’de yetiştirilen bazı okaliptüs (Eucalyptus) türlerinin uçucu yağ verim ve bileşimlerinin ve üretim teknolojilerinin belirlenmesi. T:C: Tarım ve Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü; Orman Bakanlığı Yayın No: 084, Ankara.
- Anonim, (2020). *Maş fasulyesinin ekim alanı, üretim miktarı ve İthalat hacmi*. <https://www.tuik.gov.tr/>
- Anonim, (2023). *Maş fasulyesinin üretim miktarı*. <https://www.tuik.gov.tr/>
- Baidoo, P. K., Mochiah, M. B., & Owusu-Akyaw, M. (2010). The effect of time of harvest on the damage caused by the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Fab.)(Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 1(3), 24-28.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils- A review. *Food and Chemical Toxicology* 46(2), 446- 475.
- Bhaduri, N., Ram, S., & Patil, B. D. (1985). Evaluation of some plant extract as protectants against pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* F. infesting cowpea seeds. *Journal of Entomological Research*, 9(2), 183-187.
- Bittner, M. L., Casanueva, M. E., Arbert, C. C., Aguilera, M. A., Hernández, V. J., & Becerra, J. V. (2008). Effects of essential oils from five plant species against the granary weevils *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera). *Journal of the Chilean Chemical Society*, 53(1), 1455-1459.
- Boxall, R. A. (2001). Post-harvest losses to insects—a world overview. *International Biodeterior Biodegradation*, 48(1-4), 137-152.
- Bozoğlu, H., & Topal, N. (2005). Ülkemiz için yeni yemeklik tane baklagil türleri. In *Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi Bildiriler 1 (Tahıllar, Bitki İslahı ve Biyoteknoloji, Yemeklik Tane Baklagiller)* (ss. 5-9). Atatürk Üniversitesi Yayınları.
- Brounce, F. (2002). Soya is flavones: a new and promising ingredient for the health food sector. *Food Research Institute*, 35, 187-193.
- Chawe, K. G., Venkataramana, P. B., & Ndakidemi, P. A. (2019). Assessment of farmers’ indigenous knowledge and preferences: A tool for sustainable lablab bean (*Lablab purpureus* L. Sweet) improvement and utilization in Northern Tanzania. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 21, 1-14.
- Chu, S. S., Liuand Q. R., & Liu, Z. L. (2010). Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 489-492.
- Çam, H., Karakoç, Ö. C., Gökçe, A., Telci, İ., & Demirtaş, İ. (2012). Farklı nane türlerine ait klonların uçucu yağlarının buğday biti (*Sitophilus granarius* L.) (Coleoptera: Curculionidae)]’ne fumigant etkisi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 36(2), 255-263.
- Çelik, E., & Çelik, G. Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 5(2), 1-6.
- Çetin, H., & Elma, F. N. (2017). Bazı bitki ekstraktlarının börülce tohum böceği [*Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae)] erginlerine etkileri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(4), 404-411.
- Çetin, H., & Güdek, M. (2020). Effect of essential oil from the leaves of rosemary used in the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) on the hydration coefficient, cookability, taste and color of the edible chickpea. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(2), 301-310.
- Dongre, T. K., Pawar, S. E., Thakare, R. G., & Harwalkar, M. R. (1996). Identification of resistant sources to cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* (F.)) in *Vigna* sp. and inheritance of their resistance in black gram (*Vigna mungo* var. *mungo*). *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 32(3), 201-204.
- Elma, F. N., & Çetin, H. (2022). Biberiye [*Rosmarinus officinalis* L.] uçucu yağının *Callosobruchus maculatus* (F.)’un yumurta bırakma davranışına etkisi ve erginlere karşı toksisitesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(3), 504-510.
- Gosh, S., Roy, A., & Kundagraml, S. (2020). Screening of mungbean (*Vigna radiata*) genotypes against bruchid (*Callosobruchus maculatus*) attack to reduce post-harvest losses. *Legume Research*, 1, 9-11.
- Grassmann, J., & Elstner, E. F. (2003). Essential oils/properties and uses. *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition* (Elsevier Science Ltd.).
- Güdek, M., & Çetin, H. (2016). Fumigant toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiales: Lamiaceae) essential oil against immature stages of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Turkish Journal of Entomology*, 40(4), 455-466.
- Heydarzade, A., & Moravvej, G. (2012). Contact toxicity and persistence of essential oils from *Foeniculum vulgare*, *Teucrium polium* and *Satureja hortensis* against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) adults. *Turkish Journal of Entomology*, 36(4), 507-518.
- Karakoç, Ö. C., Gökçe, A., & Telci, İ. (2006). Bazı bitki uçucu yağlarının *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus granarius* L. (Col.: Curculionidae) ve *Acanthoscelides obtectus* Say. (Col.: Bruchidae)’a karşı fumigant etkileri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 30(2), 123-135.

- Kaya, K., Sertkaya, E., Üremiş, İ., & Soyulu, S. (2018). Determination of chemical composition and fumigant insecticidal activities of essential oils of some medicinal plants against the adults of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(5), 708-714.
- Lawn, R. J., & Russell, J. S. (1978). Mungbeans: a grain legume for summer rainfall cropping areas of Australia. *The Journal of Australian Institute of Agricultural Science*, 44(1), 28-41.
- Lee, B. H., Annis, P. C., Tumaalii, F., & Choi, W. S. (2004). Fumigant toxicity of essential oils from the myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40, 553-564.
- Madhujith, T., Nacz, M., & Shahidi, F. (2004). Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Lipids*, 11, 220-233.
- Majhi, P. K., & Mogali, S. C. (2020). Characterization and selection of bruchid [*Callosobruchus maculatus* (F.)] tolerant greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] genotypes. *Indian Journal of Agricultural Research*, 54(6), 679-688.
- Moravvej, G., Hassanzadeh-Khayyat, M., & Abbar, S. (2010). Vapor activity of essential oils extracted from fruit peels of two Citrus species against adults of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Turkish Journal of Entomology*, 34(3), 279-288.
- Nair, R. M., & Schreinemachers, P. (2020). Global status and economic importance of mungbean, In R. M., Nair, R. Schafleitner, & S.-H. Lee (Ed.), *The mungbean genome* (pp. 1-8). Springer, Cham.
- Ofuya, T. L., Olotuah, O., & Akinyoade, D. (2010). The effect of storage on the efficacy of *Eugenia aromatica* (Baill.) in the control of *Callosobruchus Maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) pest. *The Journal of Applied Sciences & Environmental Management*, 14(1), 97-100.
- Oplinger, E. S., Hardman, L. L., Kaminski, A. R., Combs, S. M., & Doll, J. D. (1990). Mungbean, *Alternative Field Crops Manual*. University of Wisconsin Extension.
- Ponnusamy, D., Pratap, A., Singh, K. S., & Gupta, S. (2014). Evaluation of screening methods for bruchid beetle (*Callosobruchus chinensis*) resistance in greengram (*Vigna radiata*) and blackgram (*Vigna mungo*) genotypes and influence of seed physical characteristics on its infestation. *Vegetos*, 27, 60-67.
- Rajendran, S., & Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44(2), 126-135.
- Samyuktha, S. M., Malarvizhi, D., Mariyammal, I., Karthikeyan, A., Seram, D., Dhasarathan, M., & Senthil, N. (2022). The hunt for mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) genotypes and breeding lines resistance to South Indian bruchid strain. *Agriculture*, 12(7), pp 1050.
- Selimoğlu, T., Gökçe, A., & Yanar, D. (2015). Bazı bitki uçucu yağlarının *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) üzerindeki fumigant toksisiteleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 39(1), 109-118.
- Shaaya, E., Kostjucovski, M., Eilberk, J., & Sukprakarn, C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insect. *Journal of Stored Product Research*, 33, 7-15.
- Somta, P., Ammaranan, C., Ooi, P. A-C., & Srinives, P. (2007). Inheritance of seed resistance to bruchids in cultivated mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Euphytica*, 155, 47-55.
- Tapondjou, L. A., Adler, C., Bouda, H., & Fontem, D. A. (2002). Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 38, 395-402.
- Taş, M. N., Uysal, M., & Çetin, H. (2015). Bazı bitki ekstraktlarının *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col.: Bruchidae)'e olan kontak toksisiteleri. *Bitki Koruma Bülteni*, 55(3), 195-205.
- Tripathi, A., Tripathi, D. K., Chauhan, D. K., Kumar, N., & Singh, G. S. (2016). Paradigms of climate change impacts on some major food sources of the world: A review on current knowledge and future prospects. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 216, 356-373.
- Udo, I. O., & Epidi, T. T. (2009). Biological effect of ethanolic extract fractions of *Ricinodendron heudelotii* (Baill) Pierre ex Pax against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Callosobruchus maculatus* Fabricius on stored grains. *African Journal of Agricultural Research*, 4(10), 1080-1085.
- Wang, S. Y., Wu, J. H., Ng, T. B., Ye, X. Y., & Rao, P. F. (2004). A non-specific lipid transfer protein with antifungal and antibacterial activities from the mung bean. *Peptides*, 25(8), 1235-1242.
- Yiğit, N., Gözüaçık, C., & Gültekin, L. (2023). Adaçayı (*Salvia* sp.) (Lamiaceae) türlerine ait uçucu yağların bazı depolanmış ürün zararlılarına karşı fumigant etkilerinin araştırılması. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 10(1), 51-59.

Sığır Gübresi ve Sığır Gübresi Kaynaklı Bokaşı Kompostlarının Marulun Gelişimi ve Yaprak SPAD Değerlerine Etkisi

İbrahim ERDAL¹  Cennet YAYLACI¹  Şevkiye Armağan TÜRKAN¹  Rahmi MERJİ¹ 

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Öz

Bu çalışmada, sığır gübresinden hazırlanmış biyokömür katkılı bokaşı kompostlarının marulun gelişimi ve bazı gelişim parametreleri üzerine etkilerini incelemek amaçlanmıştır. Sığır gübresi, kiraz çekirdeği biyokömürü, sığır gübresi biyokömürü, domates hasat artığı biyokömürü, nar kabuğu biyokömürü, saman, talaş ve domates hasat artığı ham madde olarak kullanılmıştır. Denemede, bu ham maddeler kullanılarak hazırlanan sekiz bokaşı kompostu yanında sığır gübresiyle birlikte dokuz materyal kullanılmıştır. Bu materyaller: Sığır gübresi bokaşı (M1), sığır gübresi bokaşı+kiraz çekirdeği biyokömürü (M2), sığır gübresi bokaşı+sığır gübresi biyokömürü (M3), sığır gübresi bokaşı+domates hasat artığı biyokömürü (M4), sığır gübresi bokaşı+nar kabuğu biyokömürü (M5), sığır gübresi bokaşı+saman (M6), sığır gübresi bokaşı+talaş (M7), Sığır gübresi bokaşı+domates hasat artıkları (M8) ve sığır gübresi (M9) dir. Hazırlanan bu materyallerden dekara 0, 0.75 ve 1.5 ton olacak şekilde 2 kg toprağa karıştırılarak 60 gün ön inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında sera koşullarında 2 ay süreyle marul yetiştirilmiştir. Sonuçlara göre, bokaşı kompostları, kompostlanmamış sığır gübresine kıyasla marulun büyümesini ve bazı büyüme parametrelerini artırmıştır. Bitki büyümesi üzerinde en etkili uygulamanın hayvansal gübre bokaşisi olduğu belirlenmiş olup, bokaşı kompostlanmış inek gübresine biyokömür veya bazı organik madde ilavesinin önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Son olarak, 0.75 t da⁻¹ bokaşı kompostlanmış inek gübresinin marul büyümesi için uygun olduğu belirlenmiştir.

Article Info

Received: 26.11.2024

Accepted: 18.12.2024

Anahtar Kelimeler

Bitki gelişimi
Biyokömür
Bokaşı
Kompost
Sığır gübresi

Effect of Cow Manure and Bokashi Composts Derived from Cow Manure on the Lettuce Growth and Leaf SDAP Values

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of biochar-amended bokashi composts prepared from cattle manure on lettuce growth and some growth parameters. The raw materials used include cattle manure, cherry kernel biochar, cattle manure biochar, tomato harvest residue biochar, pomegranate peel biochar, straw, sawdust and tomato harvest residue in different ratios. In the experiment, nine materials were used together with cattle manure, as well as eight bokashi composts prepared using these raw materials.. These materials were: Cattle manure bokashi (M1), cattle manure bokashi+cherry kernel biochar (M2), cattle manure bokashi+cattle manure biochar (M3), cattle manure bokashi+tomato harvest residue biochar (M4), cattle manure bokashi+pomogranete peel biochar (M5), cattle manure bokashi+straw (M6), cattle manure bokashi+sawdust (M7), Cattle manure bokashi+tomato harvest residues (M8) and cattle manure (M9). From these materials 0, 0.75 and 1.5 t da⁻¹ were mixed to soils and pre-incubated for 60 days then, lettuce was grown for two months under greenhouse condition. Bokashi composts increased the lettuce growth and some growth parameters compared to un-composted cattle manure. The most effective application on plant growth was determined to be animal manure bokashi, while the addition of biochar or some organic matter to cow manure composted with bokashi had no significant effect. Finally, 0.75 t da⁻¹ bokashi-composted cow manure is sufficient for lettuce growth.

Keywords

Biochar
Bokashi
Compost
Cow manure
Plant growth



Corresponding Author
ibrahimerdal@isparta.edu.tr

Giriş

Toprak organik maddesi, toprak verimliliğinin korunması ve sürdürülebilirliği bakımından, toprağın en önemli bileşenlerindedir. Organik madde, toprağın çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri üzerine olan olumlu katkıları sayesinde toprak verimliliğinin korunmasında ve artırılmasında önemli katkılar sağlar (Özenç vd., 2019) Bu katkıların önemli bir kısmı, bitkilerin geliştiği toprak koşullarını iyileştirmek ve bitkilere daha iyi bir ortam hazırlamak suretiyle dolaylı şekilde gerçekleşirken, organik maddenin ayrışmasıyla açığa çıkan mineral elementlerin bitki tarafından alınmasıyla da doğrudan bir katkısı vardır (Gong, vd., 2009; Kononova, 2013; Havlin ve Heiniger, 2020). Toprak verimliliği üzerine bu kadar olumlu etkileri olan toprak organik maddesi, toprak ve çevre faktörlerine bağlı olarak ayrışmakta ve bir süre sonra da tükenmektedir. Bu nedenle toprak verimliliğinin korunması ve sürdürülebilmesi için topraklara çeşitli şekillerde organik madde katkısı yapılmalıdır. En bilinen organik madde kaynağı ahır gübresi olmakla birlikte yeşil gübre, tarımsal atıkları, tarımsal işletme atıkları, algler, hümik maddeler, kompost, solucan kompostu ve bokaşı kompostu vb. gibi materyallerde organik madde girdisi olarak kullanılan diğer kaynaklardır (Erdal ve Tarakçioğlu, 2000; Tarakçioğlu ve Öztürk, 2022; Özenç vd., 2023). Kompostta benzer bir organik madde olan bokaşı, organik madde, etkili mikroorganizmalar, melas ve su kullanan anaerobik bir sürecin ürünüdür (Lew vd., 2021). Kompostla karşılaştırıldığında, bokaşı mikrobiyal aktiviteyi uyaran çok daha uygun bir C:N oranına sahiptir (Boechat vd., 2013). Artan mikrobiyal aktiviteyle toprak agregat oluşumunu ve dayanıklılığını artırarak toprağın birçok fiziksel özelliği iyileşir ve böylece toprak verimliliği artar (Ginting, 2019). Bokaşı'deki etkili mikroorganizmalar, bokaşı kompostunun toprak verimliliği üzerindeki etkinliğini artırır (Lim vd., 1999; Dębska vd., 2016; Hata vd., 2020; Evcim ve Gümü, 2022). Bokaşı uygulanan topraklardaki ürün artışı, organik bileşiklerin bitki tarafından kullanılabilir besin maddelerine hızla ayrışmasıyla ilişkilidir. Aynı zamanda toprağa bokaşı uygulaması, besin elementlerinin yıkanmasını da azaltarak toprak verimliliğine katkı sunar (Murillo-Amador vd., 2015). Son yıllarda bokaşı kompostunun farklı bitkiler üzerindeki etkileri araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Farklı çalışmalarda bokaşı'nın marul verimini, baş çapı, taze ağırlık ve yaprak sayısı gibi verim parametrelerini artırdığı bildirilmiştir (Hata vd., 2020). Goulart vd., (2018) yaptıkları bir araştırmada, dekara 500 kg bokaşı uygulamasının marulun verim ve verim parametrelerini olumlu etkilediklerini bildirmiştir. Benzer şekilde pancar ve lahanaya verimi de bokaşı'den olumlu etkilenirken (Silva ve Oliveira, 2018), maydanoz yaprağının klorofil indeksi bokaşı uygulamalarıyla artmıştır (Xavier vd., 2019).

Bu çalışmada farklı materyaller içeren çeşitli sığır gübresi bokaşilerinin marulun gelişimiyle bazı gelişim parametreleri üzerine olan etkilerini inceleyerek bokaşilerin etkinliklerini karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma, 2023 yılı Mart-Mayıs ayları arasında, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü cam serasında yürütülmüştür. Deneme 2 kg'lık saksılarda tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlı planlanmıştır. Denemede kullanılan toprak killi-tınlı bünyeli, hafif alkali reaksiyonlu (pH: 7.5) olup, tuzluluk sorunu bulunmamaktadır (EC: 0.14 ds m⁻¹). Toprağın organik madde içeriği düşük (% 1.5), kireç içeriği ise yüksektir (% 28). Bitkiye yararlı P içeriği 11, değişebilir K içeriği ise 161 mg kg⁻¹ dir.

Denemede dekara 0 (kontrol), 0.75 ve 1.5 ton olmak üzere 8 farklı bokaşı ve yanmış sığır gübresi eklenmiş, toprakla karıştırılarak 60 gün ön inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda her saksıya 200 mg kg⁻¹ N, 100 mg kg⁻¹ P ve 100 mg kg⁻¹ K dozlarında amonyum nitrat, triple süperfosfat ve potasyum sülfat gübreleri kullanılarak temel gübreleme yapılmıştır. Topraklar elle iyice karıştırılmış, her saksıya ikişer tane kıvrıkcık marul fidesi (Crispa) dikilmiş, fideler tutuktan sonra sayı bire düşürülerek 2 ay süreyle gelişime bırakılmıştır

Denemede kullanılan bokaşı kompostları ve karışım oranları Tablo 1'de bokaşilerin bazı özellikleri ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Denemede kullanılan bokaşı materyalleri ve karışım oranları (g g⁻¹)

Bokaşı karışımları (Materyaller)	Sığır gübresi	Bokaşı kepeği	Mikroorganizma	Metas	Vişne çekirdeği biyokömürü	Sığır gübresi biyokömürü	Domates hasat atığı biyokömürü	Nar kabuğu biyokömürü	Saman	Talaş	Domates hasat kalıntısı
M1	90.27	8.25	0.02	1.46	-	-	-	-	-	-	-
M2	85.77	7.84	0.02	1.39	4.98	-	-	-	-	-	-
M3	85.75	7.83	0.02	1.39	-	5.01	-	-	-	-	-
M4	85.98	7.85	0.02	1.39	-	-	4.76	-	-	-	-
M5	85.85	7.84	0.02	1.39	-	-	-	4.90	-	-	-
M6	83.11	7.59	0.02	1.35	-	-	-	-	7.93	-	-
M7	83.23	7.60	0.02	1.35	-	-	-	-	-	7.80	-
M8	83.21	7.60	0.02	1.35	-	-	-	-	-	-	7.82
M9	100.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

M1: Sığır gübresi bokaşısı, M2: Sığır gübresi bokaşısı + Vişne çekirdeği biyokömürü, M3: Sığır gübresi bokaşısı + sığır gübresi biyokömürü, M4: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı biyokömürü M5: Sığır gübresi bokaşısı + nar kabuğu biyokömürü, M6: Sığır gübresi bokaşısı + saman, M7: Sığır gübresi bokaşısı + talaş, M8: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı, M9: Sadece sığır gübresi.

Tablo 2. Bokaşı ve sığır gübresine ait bazı özellikler ve toplam N, P, K içerikleri

Materyaller	OM (%)	pH	EC (ds m ⁻¹)	N (%)	P	K
M₁	69	6.32	2.95	1.9	0.5	1.9
M₂	70	6.51	3.60	1.8	0.5	1.6
M₃	71	6.41	3.40	1.9	0.5	1.6
M₄	68	6.63	3.75	1.6	0.5	1.7
M₅	69	6.72	4.05	1.7	0.5	1.7
M₆	68	6.08	3.20	2.0	0.5	1.6
M₇	68	6.29	3.35	1.0	0.5	1.7
M₈	66	6.09	3.55	1.6	0.6	1.9
M₉	73	7.32	4.21	1.9	0.5	1.6

M1: Sığır gübresi bokaşısı, M2: Sığır gübresi bokaşısı + Vişne çekirdeği biyokömürü, M3: Sığır gübresi bokaşısı + sığır gübresi biyokömürü, M4: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı biyokömürü M5: Sığır gübresi bokaşısı + nar kabuğu biyokömürü, M6: Sığır gübresi bokaşısı + saman, M7: Sığır gübresi bokaşısı + talaş, M8: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı, M9: Sadece sığır gübresi.

Denemede kullanılan toprağa ait bazı tanımlayıcı özellikleri Kacar (2009)'da belirtilen yöntemler kullanılarak, bokaşı analizleri ise Kacar ve Kütük (2010)'da belirtilen organik gübrelerin analizlerinde kullanılan yöntemler kullanılarak yapılmıştır. İki aylık bir büyüme periyodundan sonra, bitkiler kökleriyle birlikte hasat edilmiştir. Hasattan önce, kök kaybını en aza indirmek için topraklar suyla doyurulmuş, kökler suyla yıkanarak topraktan temizlenmiştir. Marulun baş yüksekliği ve genişliği bir cetvelle, kök kalınlığı ise kök ve başın birleşme noktasından manuel bir kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Köklerin uzunluğu bir cetvel kullanılarak belirlenmiştir. Baş ve kökler ayrıldıktan sonra, ağırlıkları dijital teraziyle alınmış, yapraklar sayılarak kaydedilmiştir. Yaprığın yeşil renk yoğunluğu (SPAD) değerlerini belirlemek için her bitkiden 4 yaprakta okuma yapılarak ortalaması alınmıştır. Bitki ölçümleri ve SPAD ölçümleri Erdal vd., (2023) tarafından bildirildiği şekilde hasat anında yapılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi MSTAT programı kullanılarak yapılırken, uygulamalar arasındaki farkları belirlemek için bir Tukey testi uygulanmıştır (P<0.01).

Bulgular

Marul yaş ağırlığı ve yaprak SPAD değeri

Doz ve materyal etkileşimine bağlı olarak en düşük baş yaş ağırlık 52.3 g ile 0.75 t da⁻¹ M7 uygulamasından, en yüksek baş yaş ağırlık ise 86.3 g ile M1'in 0.75 t da⁻¹ dozundan elde edilmiştir (Tablo 3). Ortalama değerlere göre, en düşük bitki baş yaş ağırlığı M7 (60.6 g) ve M9 (61.9 g) uygulaması yapılan bitkilerden elde edilirken,

en yüksek (78.0 g) baş yaş ağırlığı M1 uygulaması yapılan bitkilerden alınmıştır. Dozların etkisi incelendiğinde en düşük bitki yaş ağırlığını 65.4 g ile kontrol grubu verirken; 1.5 t da⁻¹ dozu kontrole göre yaklaşık %11'lik bir artış sağlayarak 72.7 g baş ağırlığına ulaşmıştır. Marulun kök yaş ağırlığı 14.0 g ile kontrol gruplarından elde edilirken, en yüksek ağırlık (28.2 g) M2'nin dekara 1.5 ton olan uygulamasında ulaşılmıştır. Materyallerin kök yaş ağırlığına etkisi incelendiğinde en yüksek (22.1 g) değer M2 uygulanan bitkilerden, en düşük (16.4 - 16.2 g) değer ise M5 ve M9 uygulanan bitkilerden ölçüldüğü görülmektedir. Dozların kök yaş ağırlığına etkisine bakıldığında, uygulama dozu arttıkça kontrole göre kök yaş ağırlığının arttığı, ancak yüksek ve düşük doz arasında istatistiksel anlamda bir fark görülmemiştir.

Tablo 3. Uygulamaların marulun baş ve kök yaş ağırlığına etkisi

Materyaller (M)	Materyal dozları (t da ⁻¹)			Ortalama
	0	0.75	1.5	
	Baş ağırlığı (g)			
M1	65.4 C-G*	86.3 A	82.4 A-D	78.0 A***
M2	65.4 C-G	78.6 A-E	85.2 AB	76.4 AB
M3	65.4 C-G	74.2 A-F	82.9 ABC	74.2 ABC
M4	65.4 C-G	63.5 EFG	67.9 B-G	65.6 CD
M5	65.4 C-G	69.6 A-G	64.4 D-G	66.4 CD
M6	65.4 C-G	69.3 A-G	73.0 A-F	69.2 BCD
M7	65.4 C-G	52.3 G	64.0 EFG	60.6 D
M8	65.4 C-G	67.3 B-G	75.1 A-F	69.3 A-D
M9	65.4 C-G	60.5 EFG	59.7 FG	61.9 D
Ortalama	65.4 b**	69.1 ab	72.7 a	
	Kök ağırlığı (g)			
M1	14.0 F	27.3 AB	20.7 A-F	20.7 ABC
M2	14.0 F	24.1 A-D	28.2 A	22.1 A
M3	14.0 F	23.8 A-D	25.3 ABC	21.0 AB
M4	14.0 F	22.0 A-F	21.0 A-F	18.9 A-D
M5	14.0 F	17.8 C-F	17.5 C-F	16.4 D
M6	14.0 F	18.2 C-F	18.3 C-F	16.8 CD
M7	14.0 F	18.0 C-F	24.3 ABC	18.7 A-D
M8	14.0 F	16.0 DEF	22.5 A-E	17.5 BCD
M9	14.0 F	15.2 F	19.4 B-F	16.2 D
Ortalama	14.0 b	20.3 a	21.9 a	

*: Etkileşim etkisi, **Doz ortalamaları, ***Materyal ortalamaları. Aynı harfleri paylaşan değerler arasında istatistiksel anlamda önemli bir fark yoktur. M1: Sığır gübresi bokaşısı, M2: Sığır gübresi bokaşısı + Vişne çekirdeği biyokömürü, M3: Sığır gübresi bokaşısı + sığır gübresi biyokömürü, M4: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı biyokömürü M5: Sığır gübresi bokaşısı + nar kabuğu biyokömürü, M6: Sığır gübresi bokaşısı + saman, M7: Sığır gübresi bokaşısı + talaş, M8: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı, M9: Sadece sığır gübresi.

Tablo 4. Uygulamaların marulun yaprağın SPAD değerine etkisi

Materyaller (M)	Materyal dozları (t da ⁻¹)			Ortalama
	0	0.75	1.5	
	SPAD			
M1	27.0 A*	25.6 ABC	27.0 A	26.5 A***
M2	27.0 A	25.6 ABC	24.1 ABC	25.5 AB
M3	27.0 A	24.1 ABC	24.8 ABC	25.3 AB
M4	27.0 A	21.2 C	23.6 ABC	23.9 AB
M5	27.0 A	22.2 ABC	23.3 ABC	24.2 AB
M6	27.0 A	23.4 ABC	23.6 ABC	24.7 AB
M7	27.0 A	22.4 ABC	22.6 ABC	24.0 AB
M8	27.0 A	21.4 BC	22.1 ABC	23.5 B
M9	27.0 A	26.8 AB	25.6 ABC	26.5 A
Ortalama	27.0 a**	23.6 b	24.1 b	

*: Etkileşim etkisi, **Doz ortalamaları, ***Materyal ortalamaları. Aynı harfleri paylaşan değerler arasında istatistiksel anlamda önemli bir fark yoktur. M1: Sığır gübresi bokaşısı, M2: Sığır gübresi bokaşısı + Vişne çekirdeği biyokömürü, M3: Sığır gübresi bokaşısı + sığır gübresi biyokömürü, M4: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı biyokömürü M5: Sığır gübresi bokaşısı + nar kabuğu biyokömürü, M6: Sığır gübresi bokaşısı + saman, M7: Sığır gübresi bokaşısı + talaş, M8: Sığır gübresi bokaşısı + domates hasat kalıntısı, M9: Sadece sığır gübresi.

Bokaşı ve sığır gübresi uygulamalarının yaprakta ölçülen SPAD değerleri üzerine bireysel ve karşılıklı etkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4). Bitkilerde en yüksek SPAD değeri (27.0) kontrol

grubu ve 1.5 t da⁻¹ M1 uygulamalarından elde edilirken; en düşük 0.75 t da⁻¹ M4 uygulamasından (21.2) elde edilmiştir. Kullanılan materyallerden en yüksek (26.5) SPAD değeri M1 ve M9 uygulanan bitkilerde ölçülmüş olup; buna kıyasla en düşük (23.5) SPAD değeri M8 uygulanan bitkilerde ölçülmüştür. Dozların etkisi incelendiğinde ise bokaşi ve sığır gübresinin artan dozları yaprak SPAD değerinin azalmasına neden olmuştur.

Yaprak sayısı, baş genişliği, baş boyu, kök çapı ve kök uzunluğu

Tablo 5'te uygulamaların marulda yaprak sayısı, baş genişliği ve baş boyu üzerine etkisi verilmiştir. Yaprak sayısı üzerine uygulamaların ortak etkisi incelendiğinde 0.75 t da⁻¹ M7 uygulanan saksıda yetişen bitkilerin en düşük (22.3 adet) yaprak sayısına sahip oldukları görülmektedir. Buna karşılık 1.5 t da⁻¹ M2 uygulanan bitkilerde belirlenen yaprak sayılarının yaklaşık % 54'lük bir artış göstererek en yüksek değer olan 34.5'e ulaşmıştır. Materyal uygulamalarının yaprak sayısı üzerine etkisine bakıldığında; en fazla yaprak sayısının M1 ve M2 uygulanan bitkilerde, en az yaprak sayısının ise M7 uygulanan bitkilerde olduğu görülmektedir. Doz ortalamalarına bakıldığında, artan dozların yaprak sayısını anlamlı derecede artırdığı görülmüş, kontrolde 25.5 olan yaprak sayısı diğer dozlarda sırasıyla 27.5 ve 29.4'e yükselmiştir.

Tablo 5. Uygulamaların yaprak sayısı, baş genişliği ve baş boyu üzerine etkisi

Materyaller (M)	Materyal dozları (t da ⁻¹)			Ortalama
	0	0.75	1.5	
	Yaprak sayısı (adet)			
M1	25.5 BC*	31.5 AB	32.3 AB	29.8 A***
M2	25.5 BC	26.8 ABC	34.5 A	28.9 A
M3	25.5 BC	28.3 ABC	32.0 AB	28.6 AB
M4	25.5 BC	28.0 ABC	28.8 ABC	27.4 AB
M5	25.5 BC	28.3 ABC	29.0 ABC	27.6 AB
M6	25.5 BC	28.3 ABC	26.3 ABC	26.7 AB
M7	25.5 BC	22.3 C	25.8 ABC	24.5 B
M8	25.5 BC	27.0 ABC	29.3 ABC	27.3 AB
M9	25.5 BC	27.5 ABC	27.0 ABC	26.7 AB
Ortalama	25.5 c**	27.5 b	29.4 a	
	Baş genişliği (cm)			
M1	21.5	22.8	22.9	22.4
M2	21.5	23.3	23.6	22.8
M3	21.5	22.8	23.0	22.4
M4	21.5	22.6	22.5	22.2
M5	21.5	22.6	23.1	22.4
M6	21.5	21.6	24.0	22.4
M7	21.5	20.6	23.1	21.8
M8	21.5	23.3	23.1	22.6
M9	21.5	22.5	22.1	22
Ortalama	21.5 b	22.5 b	23.1 a	
	Baş boyu (cm)			
M1	12.8 B	13.0 AB	13.3 AB	13.0
M2	12.8 B	15.1 AB	14.4 AB	14.1
M3	12.8 B	14.3 AB	14.0 AB	13.7
M4	12.8 B	14.0 AB	14.1 AB	13.6
M5	12.8 B	14.1 AB	13.5 AB	13.5
M6	12.8 B	13.0 AB	13.9 AB	13.2
M7	12.8 B	13.4 AB	14.3 AB	13.5
M8	12.8 B	13.1 AB	15.6 A	13.8
M9	12.8 B	13.9 AB	14.0 AB	13.5
Ortalama	12.8 b	13.8 a	14.1 a	

*: Etkileşim etkisi, **Doz ortalamaları, ***Materyal ortalamaları. Aynı harfleri paylaşan değerler arasında istatistiksel anlamda önemli bir fark yoktur. M1: Sığır gübresi bokaşisi, M2: Sığır gübresi bokaşisi + Vişne çekirdeği biyokömürü, M3: Sığır gübresi bokaşisi + sığır gübresi biyokömürü, M4: Sığır gübresi bokaşisi + domates hasat kalıntısı biyokömürü M5: Sığır gübresi bokaşisi + nar kabuğu biyokömürü, M6: Sığır gübresi bokaşisi + saman, M7: Sığır gübresi bokaşisi + talaş, M8: Sığır gübresi bokaşisi + domates hasat kalıntısı, M9: Sadece sığır gübresi.

Materyal ve doz etkileşimine göre marul baş genişliği 21.5 ile 24.0 cm arasında değişim göstermiş olmakla beraber bu değişim istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. Yine materyaller arası farklılık bitki baş

genişliğini etkilememiştir. Marul baş genişliği üzerine tek etkili faktör uygulama dozları olurken 0 kg da⁻¹ dozunda 21.5 cm olan baş genişliği 1.5 ton da⁻¹ dozunda 23.1 cm olmuştur.

Materyallerin marulun baş boyu üzerine etkisine gelince, en kısa bitki boyu (12.8 cm) kontrol grubu bitkilerinden elde edilmiştir. Kontrole kıyasla 2.8 cm artış göstererek en uzun (15.6 cm) bitki boyu 1.5 t da⁻¹ M8 uygulanan bitkilerden elde edilmiştir. Materyaller arasındaki farkın bitki boyu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz çıkmıştır. Dozlardan en kısa (12.8 cm) bitki boyu 0 kg da⁻¹ grubu bitkilerinde ölçülürken, en uzun (14.1 cm) bitki boyu ise 1.5 t da⁻¹ materyal uygulanan bitkilerde ölçülmüştür.

Bokaşı kompostları ve sığır gübresinin marulun kök boğazı çapı ve kök uzunluğuna etkisine yönelik bulgular Tablo 6'da sunulmuştur. Kök boğazı çapı üzerine uygulamaların ortak etkisi incelendiğinde en yüksek kök boğazı çapı (2,04 cm) 1,5 t da⁻¹ M8 uygulanan bitkilerde, en düşük kök boğazı çapı (1.40 cm) ise 0.75 t da⁻¹ M5 uygulanan bitkilerde ölçülmüştür. Materyaller ve dozlar arası fark kök boğazı çapı yönünden istatistiksel olarak önemsiz çıkmıştır. Marulda kök uzunluğu değerleri interaksyona bağlı olarak 20.3 – 26.8 cm arasında değişim göstermiş ancak, bu değişim arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde, materyal dozları ve materyal çeşitlerinin bireysel etkileri de marulun kök uzunluğuna anlamlı etki yapmamıştır.

Tablo. 6 Uygulamaların kök boğazı çapı ve kök uzunluğuna etkisi

Materyaller (M)	Materyal dozları (t da ⁻¹)			Ortalama
	0	0.75	1.5	
	Kök boğazı çapı (cm)			
M1	1.62 AB	1.78 AB	1.69 AB	1.7
M2	1.62 AB	1.61 AB	1.66 AB	1.63
M3	1.62 AB	1.52 AB	1.69 AB	1.61
M4	1.62 AB	1.58 AB	1.50 AB	1.56
M5	1.62 AB	1.40 B	1.60 AB	1.54
M6	1.62 AB	1.61 AB	1.67 AB	1.63
M7	1.62 AB	1.61 AB	1.57 AB	1.6
M8	1.62 AB	1.54 AB	2.04 A	1.73
M9	1.62 AB	1.67 AB	1.67 AB	1.65
Ortalama	1.62	1.59	1.67	
	Kök uzunluğu (cm)			
M1	26.8	26.5	26.5	26.6
M2	26.8	23.1	24.6	24.8
M3	26.8	23.6	26.8	25.7
M4	26.8	26.4	22.3	25.1
M5	26.8	26.5	22.5	25.3
M6	26.8	24.0	25.0	25.3
M7	26.8	25.8	22.3	24.9
M8	26.8	23.3	25.9	25.3
M9	26.8	20.3	24.0	23.7
Ortalama	26.8	24.4	24.4	

*: Etkileşim etkisi. Aynı harfleri paylaşan değerler arasında istatistiksel anlamda önemli bir fark yoktur. M1: Sığır gübresi bokaşisi, M2: Sığır gübresi bokaşisi + Vişne çekirdeği biyokömürü, M3: Sığır gübresi bokaşisi + sığır gübresi biyokömürü, M4: Sığır gübresi bokaşisi + domates hasat kalıntısı biyokömürü M5: Sığır gübresi bokaşisi + nar kabuğu biyokömürü, M6: Sığır gübresi bokaşisi + saman, M7: Sığır gübresi bokaşisi + talaş, M8: Sığır gübresi bokaşisi + domates hasat kalıntısı, M9: Sadece sığır gübresi.

Tartışma

Elde edilen sonuçlara bakıldığında, bokaşilerin genelinin marulun baş ve kök yaş ağırlığıyla yaprak sayısı gibi önemli verim kriterleri üzerine etkili olduğu görülmektedir. Bazı bokaşilerin ve sığır gübresinin etkileri benzer olmakla birlikte, özellikle M1, M2 ve M3 ile tek başına sığır gübresi (M9) arasında belirgin farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Bu durum, kompostlanmamış sığır gübresine göre bokaşilerin özellikle baş ve kök ağırlığı konularında üstünlüğünü ortaya koymaktadır. Genel olarak bokaşilerin kompostlanmamış sığır gübresine göre üstünlükleri görülse de bokaşilerin kendileri arasında belirgin bir ayrım gözlenmemiştir. Fernández vd., (2008), kompostlanmış organik katkı maddelerinin, kompostlanmamış olanlara kıyasla bitki

büyümesi üzerinde çok sayıda avantaja sahip olduğunu belirtmişlerdir. Pei-Sheng ve Hui-Lian (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, bokaşı ile gübrelenen fıstık bitkilerinin büyüme parametrelerinin ve bitki kuru ağırlıklarının arttığı belirtilmiştir. Diğer bir çalışmada, kompostlanmış kümes hayvanı gübresinin, kompostlanmamış gübreye göre mısırın gelişimini daha fazla artırdığını bildirilmektedir (Farhad vd., 2019). Yapılan bir çalışmada, bokaşı dozunun kırmızı soğanın bitki boyu, yaprak sayısı, taze ağırlık ve kuru ağırlık gibi bitki büyüme parametrelerini etkilediği, ancak bokaşı tiplerinin gözlenen tüm ölçümleri önemli ölçüde etkilemediği belirtilmiştir (Surawijaya vd., 2019). Benzer şekilde Prisa (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, büyüme ortamına eklenen bokaşının bitkinin (*Kalanchoe Blossfeldiana*) bazı büyüme parametrelerini ve mineral beslenmesini kontrole kıyasla artırdığı, ancak her bir bokaşı arasındaki etkilerin çoğu durumda benzer olduğu belirlenmiştir. Uğur (2018) yaptığı tarla denemesinde marul bitkisine, mantar kompostunun 2 ton da⁻¹ uyguladığı çalışmada kontrol parsellerine göre bitki köklerinin daha ağır olduğunu tespit etmiştir. Çalışmamızda da benzer olarak bokaşı kompostu karışımının tam doz uygulanan saksılarında en yüksek kök yaş ağırlık değerini verdiği görülmüştür. Artan dozlarda materyal uygulamasıyla yaprak sayısının arttığı, en yüksek yaprak sayısının materyallerin yüksek dozundan elde edildiği görülmüştür. Benzer şekilde Özenç ve Şenlikoğlu (2017) yaptıkları çalışmada kompost uygulamasının toprağa karıştırılma oranlarına bağlı olarak bitki yaprak ve sap gelişimi üzerine etkili olduğunu, artan dozlarda kompost uygulamasının yaprak sayısını artırdığını bulmuşlardır. Elde edilen sonuçlar yapraklarda ölçülen SPAD değerlerinin artan materyal dozlarına bağlı olarak azaldığını göstermiştir. Bu durum, uygulamalarla artan bitki gelişimi ve yaprak yüzey alana bağlı olarak yeşil renk yoğunluğunun azalmasıyla ilişkili olabilir. Nitekim yapılan bir araştırmada da yaprak yüzey alanıyla SPAD değeri arasında belirli bir negatif ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Marenco vd., 2009).

Bokaşı uygulamalarıyla elde edilen gelişim ve gelişim parametrelerindeki artışlar bokaşilerin çeşitli şekillerde bitki gelişimini teşvik etmesiyle ilişkilidir. Yapılan araştırmalar, bokaşı kullanımının mikrobiyal popülasyonu ve toprağın düzenini değiştirdiğini ve böylece toprak verimliliğini artırdığını bildirmiştir (Scotton vd., 2020; Luo vd., 2022). Maki vd. (2021), bokaşide bulunan laktik asit bakterilerinin bitki büyümesini teşvik eden maddeleri çevreye salgıladığını ve bunun da bitki büyümesini artırdığını bildirmiştir. İncelenen parametrelerin çoğu açısından diğer bokaşiler arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Sığır gübresi bokaşisi uygulamasının, bokaşinin biyokömür veya çeşitli organik maddelerle birlikte uygulanmasından birçok açıdan üstün olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar Guo vd. (2020) tarafından da ifade edilmiştir. Çalışmamızda biyokömür ile bokaşı uygulamalarının etkisinin az olması, bokaşı karışımlarında kullanılan biyokömür oranlarının yetersiz olmasıyla ilgili olabilir. Ayrıca, biyokömürü üretmek için kullanılan yöntem gibi çeşitli diğer faktörler de biyokömürün özelliklerini etkilemiş olabilir. Yine, bu denemede kullanılan toprağın alkalın özelliği, biyokömür verimsizliğinin diğer bir sonucu olabilir. Önceki çalışmalarda belirtildiği gibi, alkalın topraklara uygulanan biyokömürün agronomik verimliliği oldukça düşüktür (Erdal vd., 2021). Pandit vd. (2019) biyokömür ilavesinin bitki büyümesini artırabileceğini, ancak biyokömürün kullanılabilmesi için toprak koşullarına, biyokömür türüne ve ek gübrelemeye özel dikkat gösterilmesi gerektiğini belirtmiştir.

Sonuç

Elde edilen sonuçlar, yaş ağırlık değerleri dâhil olmak üzere çoğu parametre üzerine en etkili uygulamanın sığır gübresi bokaşisi olduğu görülmüştür. Bokaşı kompostlanmış sığır gübresi ile kompostlanmamış sığır gübresi arasında bitki büyümesi ve kimi büyüme parametreleri üzerinde belirgin farklılıklar görülmüştür. Ek olarak, bokaşı kompostlanmış sığır gübresine biyokömür veya bazı organik madde ilavesinin tek sığır gübresi bokaşisine göre önemli bir etkisi olmadığı görülmüş, ayrıca sığır gübresinden hazırlanan bokaşı çeşitleri arasında da önemli bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır. Genel bir değerlendirmeyle, 1.5 ton da⁻¹ uygulama dozunun çoğu parametre üzerinde en etkili uygulama olduğu görülse de en etkili verim parametresi olan baş yaş ağırlığı üzerine 0.75 ile 1.5 ton da⁻¹ dozları arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle ekonomik açıdan da değerlendirildiğinde en etkili uygulama dozu ve materyalin 0.75 ton da⁻¹ bokaşı-kompostlanmış sığır gübresi olduğu söylenebilir.

Teşekkür

Araştırmaya mali destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (119N550) ve Güneydoğu Asya ve Avrupa Ortak Finansman Programı (SEAEUROPEJFS19IN-025) teşekkür ederiz. Ayrıca, denemede kullanılan bokaşileri hazırlayan, ISUBÜ, Ziraat Fakültesi, Tarım Teknolojileri ve Mühendisliği Bölümüne teşekkür ederiz.

Yazar Katkı Oranları

Yazarlar bu çalışmanın hazırlanmasında eşit derecede katkı sunmuşlardır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynaklar

- Boechat, C.L., Santos, J.A.G., & Accioly, A.M.D.A. (2013). Net mineralization nitrogen and soil chemical changes with application of organic wastes with Fermented Bokaşı Compost. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35, 257–264.
- Dębska, B., Długosz, J., Piotrowska-Długosz, A., & Banach- Szott, M. (2016). The impact of a bio-fertilizer on the soil organic matter status and carbon sequestration results from a field-scale study. *Journal of Soils and Sediments*, 16, 2335–2343.
- Erdal, İ., & Tarakçıoğlu, C., (2000). Değişik organik materyallerinin mısır bitkisinin (*Zea mays* L.) gelişimi ve mineral madde içeriği üzerine etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi (Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi)*, 15(2), 80-85.
- Erdal, İ., Memici, M., Ekinci, K., & Sukuşu, E., (2021). Periodical changes of some soil properties of a calcareous soil under field conditions as affected by different biochar applications. *Romanian Agricultural Research*, 38, 203-213.
- Erdal, İ., Alaboz, P., Ekinci, K., Türkan, Ş. A., Yaylacı, C., & Şener, A. (2024). Effect of biochar on some soil properties after 4-year application and its effect on growth, yield and nutrient uptake of wheat grown on an alkaline soil. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 35(1), 223-235.
- Erdal, İ., Mejri, R., Yaylacı, C., & Türkan, Ş. A. (2023). Comparison of the effectiveness of struvite and some commercial fertilizers on the growth of lettuce. *Bahçe*, 52(2), 95-102.
- Evcim, Ş.H., & Gümüş, İ. (2022). The significance of bokaşı compost obtained from beneficial microorganisms on sustainability and waste disposal. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 36(4), 95-99.
- Farhad, W., Cheema, M.A., Saleem, M.F., Hammad, H.M., & Bilal, M.F., (2011). Response of maize hybrids to composted and non-composted poultry manure under different irrigation regimes. *International Journal of Agriculture & Biology*, 13(6), 923-928.
- Fernández, J.M., Hockaday, W.C., Plaza, C., Polo, A., & Hatcher, P.G., (2008). Effects of long-term soil amendment with sewage sludges on soil humic acid thermal and molecular properties. *Chemosphere*, 73, 1838–1844.
- Ginting, S., (2019). Promoting Bokaşı as an organic fertili-zer in Indonesia: A mini review. *International Journal of Environmental Science and Natural Resources*, 21, 556070.
- Gong, W., Yan, X., Wang, J., Hu, T., & Gong, Y., (2009). Long-term manure and fertilizer effects on soil organic matter fractions and microbes under a wheat–maize cropping system in northern China. *Geoderma*, 149, 318–324
- Goulart, R.G.T., dos Santos, C.A., de Oliveira, C.M., Costa, E.S.P., de Oliveira, F.A., de Andrade, N.F., & do Carmo, M.G.F. (2018). Desempenho agrônômico de cultivares de alface sob adubação orgânica em Seropédica. *RJ Rev Bras Agropec Susten*, 8, 66-72.
- Guo, S., Wang, P., Wang, X., Zou, M., Liu, C., & Hao, J., (2020). Microalgae as biofertilizer in modern agriculture. Microalgae biotechnology for food, health and high value products, *Springer*, 397-411.
- Hata, F.T., Spagnuolob, F.A., de Paulaa, M.T., Moreiraa, A.A., Venturaa, M.U., de Freitas, Fregonezic. G.A., & de Oliveiraa,A.L.M. (2020). Bokaşı compost and biofertilizer increase lettuce agronomic variables in protected cultivation and indicates substrate microbiological changes. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(9), 640-646.
- Havlin, J., & Heiniger, R. (2020) Soil fertility management for better crop production. *Agronomy*, 10(9): 1349.
- Kacar, B. (2009). Toprak analizleri (467s). *Nobel Yayın Dağıtım*. Ankara.

- Kacar, B., & Kütük, C. (2010). Gübre analizleri. *Nobel Yayın Dağıtım*. Ankara.
- Kononova, M.M., 2013. Soil organic matter: its nature, its role in soil formation and in soil fertility. *Elsevier*.
- Lew, P.S., Nik, Ibrahim, N.N.L., Kamarudin, S., Thamrin, N.M., & Misnan, M.F. (2021). Optimization of bokaşı-composting process using effective microorganisms-1 in smart composting bin. *Sensors*, 21(8), 2847.
- Lim, T.D., Pak, T.W., & Jong, C.B. (1999). Yields of rice and maize as affected by effective microorganisms. In Proceedings of the 5th international conference on Kyusei nature farming and effective microorganisms for agricultural and environmental sustainability, *Bangkok, Thailand*, 92-98.
- Luo, Y., Lopez, J.B.G., van Veelen, H.P.J., Sechi, V., ter Heijne, A., Bezemer, T.M., & Buisman, C.J. (2022). Bacterial and fungal co-occurrence patterns in agricultural soils amended with compost and bokaşı. *Soil Biol Biochem*, 174, 108831.
- Maass, V., Céspedes, C., & Cárdenas, C. (2020). Effect of bokaşı improved with rock phosphate on parsley cultivation under organic greenhouse management. *Chil J Agric Res*. 80, 444-451.
- Maki, Y., Soejima, H., Kitamura, T., Sugiyama, T., Sato, T., Watahiki, M.K., & Yamaguchi, J. (2021). 3-Phenyllactic acid, a root-promoting substance isolated from Bokaşı fertilizer, exhibits synergistic effects with tryptophan. *Plant Biotechnol*, 38, 9-16.
- Marengo, R. A., Antezana-Vera, S. A., & Nascimento, H. C. S. (2009). Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and SPAD-502 readings in six Amazonian tree species. *Photosynthetica*, 47, 184-190.
- Murillo-Amador, B., Morales-Prado, L.E., Troyo-Diéguez, E., Córdoba-Matson, M.V., HernándezMontiel. L.G., Rueda-Puente, E.O. & Nieto-Garibay, A. (2015). Changing environmental conditions and applying organic fertilizers in *Origanum vulgare* L. *Front Plant Sci*, 6, 549.
- Özenç, D. B., & Şenlikoğlu, G. (2017) Kompost ve azotlu gübre uygulamasının ıspanak bitkisinin (*Spinacia oleracea* L.) gelişimi üzerine etkileri. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6, 227-234.
- Özenç, D. B., Yılmaz, F. I., Tarakçıoğlu, C., & Aygün, S. (2019). Fındıktan üretilen atıkların toprağın fiziko-kimyasal ve biyolojik özelliklerine etkileri. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32, 7-13.
- Özenç, D.B., Tarakçıoğlu, C., Yılmaz, F.I., & Aygün, S. (2023). Changes in physico-chemical properties of a sandy loam soil depending on the particle size of hazelnut shell-derived biochar. *Philipp Agric Scientist*, 106(4), 414-424.
- Pandit, N.R., Schmidt, H.P., Mulder, J., Hale, S.E., Husson, O., & Cornelissen, G. (2019). Nutrient effect of various composting methods with and without biochar on soil fertility and maize growth. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 66(2), 250-265.
- Pei-Sheng, Y., & Hui-Lian, X. (2002). Influence of EM Bokaşı on nodulation, physiological characters and yield of peanut in nature farming fields. *Journal of Sustainable Agriculture*, 19(4), 105-112.
- Prisa, D., 2020. EM-bokaşı addition to the growing media for the quality improvement of kalanchoe blossfeldiana. *IJMSAT*, 1(2), 54-59.
- Scotton, J.C., Homma, S.K., Costa, W.L.F., Pinto, D.F.P., Govone, J. S., & Attili-Angelis, D. (2020). Transition management for organic agriculture under citrus cultivation favors fungal diversity in soil. *Renew Agric Food Syst*, 35, 120-127.
- Silva, J., & Oliveira, D.R. (2018). Caracterização química de diferentes receitas de biofertilizantes tipo Bokaşı líquido. *Cadernos de Agroecologia*, 13(1).
- Surawijaya, P., Melhanah, M., Anwar, M., Chotimah, H.E.N.C., & Raudah, R. (2019). Application of aquatic plants bokaşı on the growth and yields of red onion (*Allium ascalonicum* L.). *Anterior Jurnal*, 18(2), 168-174.
- Tarakçıoğlu, C., & Öztürk, Y. (2022). Fındık zuruf kompostunun aşılı domates bitkisinin gelişimi ile bazı besin maddesi içerikleri üzerine etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 9(4), 968-975.
- Uğur, M., (2018). Mikoriza aşılması ve mantar kompostu uygulamalarının fasulyenin bitki gelişimi ve verimine etkisi. (Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Xavier, M.C.G., Santos, C.A., Costa, E.S.P., & Carmo, M.G.F. (2019). Produtividade de repolho em função de doses de Bokaşı. *Rev Agric Neotrop*, 6, 17-22.

Determination of The Antifungal Capacity of Kefir Components Against Spoilage Fungi

Tuğba KÖK TAŞ¹  Kübra KÜÇÜKSOKU¹  Nilüfer Sena AYDOĞDU²  Meryem ATEŞ³ 

¹ Suleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

² Afyon Kocatepe University, Afyon Vocational School, Food Processing Department, Meat and Products Technology Programme AFYONKARAHİSAR-TÜRKİYE

³ Suleyman Demirel University, Innovative Technologies Application and Research Center (YETEM) Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Abstract

The purpose of this study is to investigate the potential alternative use of kefir and its derived components in the biocontrol of fungi that cause economic losses during the harvesting and storage of fruits. The antifungal properties of kefir and its derived components (the non-protein liquid fraction of kefir, kefiran, and yeast cells isolated from kefir) were examined using the disk diffusion method, and the minimum inhibitory concentration (MIC) against naturally occurring fungi during the storage of hazelnuts, oranges, and apples were determined. Fungal isolates obtained from different fruits were identified as *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum*, and *Penicillium expansum* through 18S rRNA Polymerase Chain Reaction. The inhibition zones of *A. niger*, *P. digitatum*, and *P. expansum* were evaluated using the disk diffusion method. The minimum inhibitory concentrations (MICs) for kefir against *A. niger*, *P. digitatum*, and *P. italicum* were found to be 0.4, 0.2, and 0.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. The effectiveness of these applications was analyzed using a technique known as TOPSIS (Technique for Order Preference by Similarity to an Ideal Solution). With the development of the results of this study, alternative biocontrol applications using kefir and its components could be developed to prevent fungi-related microbial spoilage, providing an alternative to chemical treatments.

Article Info

Received: 28.11.2024

Accepted: 06.12.2024

Keywords

Aspergillus niger

Kefir

Kefiran

Penicillium digitatum

Penicillium expansum

Kefir Bileşenlerinin Bozulma Küflerine Karşı Antifungal Kapasitesi

Öz

Bu çalışmanın amacı, kefir ve ondan elde edilen bileşenlerin, meyvelerin hasat ve depolanması sırasında ekonomik kayıplara yol açan küflerin biyokontrolünde alternatif kullanım potansiyelini araştırmaktır. Kefir ve kefirde elde edilen bileşenler (kefirin protein olmayan sıvısı, kefiran ve kefirde izole edilen maya hücreleri) antifungal özelliklerinin etkisi disk difüzyon ile araştırılmış ve fındık, portakal ve elmanın depolanması sırasında doğal olarak üreyen küflere karşı minimum inhibitör konsantrasyon belirlenmiştir. Farklı meyvelerden elde edilen küf izolatları 18S RNA Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* ve *Penicillium expansum* olarak tanımlanmıştır. *A. niger*, *P. digitatum* ve *P. expansum* küflerin inhibisyon zonları disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kefirin *A. niger*, *P. digitatum* ve *P. italicum* için minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC) sırasıyla 0.4, 0.2 ve 0.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olmuştur. Bu uygulamaların etkinliği, TOPSIS (Technique for Order Preference by Similarity to an Ideal Solution) analizi olarak bilinen teknik kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarının geliştirilmesi ile, küf kaynaklı mikrobiyal bozulmaların önlenmesi için kefir ve kefirde elde edilen bileşimler kullanılarak kimyasal uygulamalara alternatif biyokontrol uygulamaları geliştirilmesi önerilir.

Anahtar Kelimeler

Aspergillus niger

Kefir

Kefiran

Penicillium digitatum

Penicillium expansum



Corresponding Author

tugbakoktas@sdu.edu.tr

Introduction

Kefir is a fermented milk product that contains a complex microbial community, including yeasts and lactic acid bacteria. It has been reported to possess antimicrobial properties, including antifungal activity against various pathogenic fungi (Kim et al., 2016). Apart from containing beneficial bacteria and yeast, it is abundant in amino acids, vitamins, minerals, and enzymes. Kefir has been approved to have antibacterial, antifungal and anti tumoural activities in addition to other beneficial attributes (Lakshmi et al., 2017; Sharifi et al., 2017; Azizkhani et al., 2021; González-Orozco et al., 2022).

Microbial decay is a significant challenge for the food industry, and it can lead to significant economic losses due to spoilage and food waste. According to some estimates, microbial spoilage accounts for up to 25% of total food losses worldwide. Microbial decay can occur due to a variety of factors, including contamination during processing, transportation, and storage, as well as inadequate preservation methods (Wang et al., 2018). The fungi such as *Penicillium expansum*, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., etc. can be developed on fruits which have high economic values and cause deterioration (Gamba et al., 2016; Moure et al., 2023). Over the past few decades, there has been a rising awareness regarding the necessity to substitute chemical control substances like fungicides and insecticides. This shift is motivated by the detrimental impact these chemicals have on the environment and the health of both humans and animals. The proposed solution is to replace them with natural products. The use of biological control agents, such as microbial antagonists and natural products, does not result in toxic residues on the fruit, unlike the application of fungicides. (Bazioli et al., 2019). Biological control is also harmless and healthier for the people who handle the products. Antagonists can be isolated from wide variety of sources such as soil, fruits, leaves, etc. (González-Estrada et al., 2018).

Recently, kefir has been used as a biocontrol agent in several investigations targeting the food industry. Kefir is certainly very difficult to use in the industry, however, it will be possible to develop components for industrial use only by determining the substance(s) effective on spoilage organisms. Gamba et al. (2016) tested antifungal activity of kefir on corn areas in order to improve shelf life and its antibacterial activity has been exhaustively demonstrated. Fouad et al. (2015) reported that kefir has antimicrobial activity on several fungus which grown on fruits including lemon, pomegranate. Zhimo et al. (2020) documented numerous specific bacterial and yeast species found in kefir grains that exhibit biocontrol properties against *Penicillium* infections in apples and grapefruits. The antifungal properties of water kefir, in addition to the components of milk kefir, have been evaluated in various studies. Gonda et al. (2019) investigated the potential of microorganisms derived from water kefir (WK) to control the growth of *Aspergillus flavus* in aerobic-phase ensiled sorghum grains and suggested that kefir could be a viable alternative for disease management. A range of isolated bacteria, including *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas syringae*, and *Bacillus subtilis*, as well as yeasts such as *Candida sake*, *Rhodotorula glutinis*, and *Debaryomyces hansenii*, were assessed for their potential to combat postharvest fruit fungi. These fungi included *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gloeosporium*, *Monilinia*, *Mucor*, *Colletotrichum*, and *Rhizopus*. Both in vitro and in vivo tests demonstrated their significant potential, as reported by González-Estrada et al. (2018).

The antifungal effects of kefir have been investigated by many studies and its inhibitory activities are well demonstrated against a wide variety of pathogens (Kim et al., 2016; Taheur et al., 2020). Erdogan et al. (2019) reported that all fungus disappeared on the 3rd day in the stools of mice fed kefir. It has also been determined in different studies that kefir has antifungal properties This research was planned to investigate the antifungal properties of kefir. As is known, kefir contains bacteria and yeasts. Does the yeast of kefir provide the inhibition of fungus or is it the protein-free component? Or is component of polysaccharide from microorganism? Or is the complex of kefir the most effective? The purpose of this study is to investigate alternative methods which may provide biocontrol of fungi that are grown during harvesting and spreading during storage of fruits. These fungi can cause serious economic loss. The effects of kefir and components from kefir on the fungi isolates (*A. niger*, *P. digitatum*, *P. expansum*) are evaluated *in vitro* tests.

Kefiran is a type of exopolysaccharide produced by lactic acid bacteria during kefir fermentation. Research suggests that kefir has potential health benefits, including antioxidant, anti-inflammatory, and cholesterol-lowering effects. However, its antibacterial and antifungal properties are still a matter of debate. Some studies have reported antibacterial activity of kefir against various bacteria, such as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes* (Moradi and Kalanpour, 2019). Similarly, the antifungal properties of kefir are also not well-established. Some studies have reported that kefir has antifungal activity against *Candida albicans* (Al-Mohammadi et al., 2021), while others have found no significant antifungal activity. Additional research is necessary to fully understand the antifungal

properties of kefir. Overall, while there is some evidence to suggest that kefir may have antifungal properties, more research is needed to fully confirm these effects. The antifungal effect of kefir on fungus was made for the first time in this study.

Material and Method

Fungal source

Hazelnut, orange, apple and lime fruits which were purchased from a local market were placed in separate sterile closed pots with controlled humidity (70%) at room temperature (25 °C) for 10 days, and fungi growth was observed.

Fungal isolation and cultivation, identification of fungus

The fungi from decayed hazelnut, orange and apple fruits were transferred in the YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YPD broth), Lab M, England) broth. It was inoculated at 25 °C for 3 days. Activated fungi were grown to Potato Dextrose Agar (PDA) (Biolife, Italy) at 25 °C 5 days for two times. A single colony was transferred to a YPD broth for further activation. In addition, all fungi were adjusted to approximately 6 log CFU/mL to be used in the disc method and for enumeration. Also, single colonies were analyzed using 18S RNA polymerase chain reaction by REGEN Biotechnology Company in Ankara, Turkey. It was amplified via PCR using primer pair ITS1 (5'-CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3') and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Halıcı and Güllü, 2024).

Preparation of kefir and the components from kefir (CFS-Kefiran-Yeast)

In this study, kefir and three different components from kefir that can also be used as an ingredient in a variety of foods were investigated on some spoilage fungi. Kefir (Kefirzadem 250 mL) was obtained from Danem Co. (Isparta, Turkey). This Kefir is produced by the fermentation of milk with kefir grains. The first component of kefir used in the research; non-protein kefir liquid (CFS-pH 4.4) was obtained by centrifuging kefir at 4500 RPM. The protein-free portion of kefir, also known as kefir water or kefir whey, is a yellowish translucent liquid that separates from the kefir grains during the fermentation process. This liquid contains a complex mixture of organic acids, vitamins, minerals, and other bioactive compounds, including polysaccharides and peptides. The second components of kefir; kefiran was obtained by applying according to the method of Koçak et al. (2021). The third component of kefir (yeast) was obtained by taking and isolating the colonies of kefir growing on PDA medium.

Organic acid profile analysis of CFS and kefir

In this analysis, organic acids in kefir were not examined because kefir predominantly consists of polysaccharide structures in terms of concentration/dominance. It is responsible for the polysaccharide structure of kefir. To determine the presence of organic acids, 2 grams of CFS and kefir were mixed with double-distilled water and homogenized for 180 seconds at 4000 rpm. Next, 10 mL of the mixture was mixed with 12.5 mL of 0.01 N H₂SO₄ and vortexed for 1 minute. The top layer was separated and centrifuged at 10,000 x g for 5 minutes. The identification of organic acids was done by comparing their retention times at 210 nm with those of pure standards. Linear equations were calculated using standard organic acid solutions (lactic, acetic, citric and formic acid standards) with high correlation coefficients (R²=0.9991, 0.9998, 0.9992 and 0.9988, respectively) to obtain the results (Duran et al., 2022). After the centrifugation process, the resulting supernatant, which is the clear liquid remaining above the precipitated material, was passed through a nitrocellulose membrane with a pore size of 0.22 µm (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) to remove any impurities and ensure sterility. The filtered supernatant was then stored at a temperature of -20°C until it was used for the antifungal activity assays (Gamba et al., 2016).

Sugar profile analysis of kefir and kefir

In this analysis, the sugar profile of CFS, a component of kefir, was not examined. CFS has a high organic acid content and reflects the organic acid content of kefir. The fermented milk samples were tested for their

glucose, galactose, and lactose content using the same pre-extraction process. The analysis was carried out using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a refractive index detector (RID) and a Transgenomic CARBOsep COREGEL-87P column. Linear equations were calculated using standard sugar solutions to obtain the results, with high correlation coefficients ($R^2=0.9936$, 0.9914 , and 0.9984 for glucose, lactose, and galactose, respectively) (Koçak et al., 2021).

Isolation and cultivation of yeast from kefir

The third components of kefir; isolation of yeasts from kefir was obtained by taking all colonies growing on PDA with lactic acid (1.4%) as supplement. For activation of kefir yeasts, colonies were inoculated into YPD medium and incubated at 25 °C for 5 days. All the colonies were inoculated in a YPD broth and activated at 25 °C for 5 days. Activated yeast cells were centrifuged by being removed from the media and stored at 4 °C for further use. The yeasts obtained from kefir were propagated in broth medium and used to test their effect against fungi.

Antifungal capacity of kefir and components from kefir by disk methods

Activated each fungus isolates (*A. niger*, *P. digitatum*, *P. expansum*) was inoculated by using the spread plate method in the PDA. Sterilized filter disks were embedded with 50 µl kefir, 50 µl CFS, 50 µl yeast, 50 µl kefir and 0.1 ppm natamycin (Danisco, Denmark) as positive control in 5 minutes. Disks which include kefir and kefir-formed compounds were placed on the petri plates. Single disks containing kefir, and components from kefir samples were also placed on separate plates. These studies were carried out in duplicates. Subsequently, the samples were incubated for 72 hour at 25 °C. Since the surface is covered by the conidia produced by the fungus, the measurement is obscured. Hence 5 days was not fulfilled. Following incubation, zones of inhibition around the filter paper discs were measured and recorded using a caliper (Rocaltrol, Germany).

Minimum inhibitory concentration testing of the kefir and components from kefir (CFS-Kefiran-Yeast)

Four different samples, were prepared and were tested against three different fungi using the well diffusion plate method. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of the tested kefir and kefir- components was carried out using agar dilution methods. Then serial dilutions 10, 5, 2, 1, 0.7, 0.5, 0.4, 0.3, 0.25, 0.2, 0.1, 0.05 µl/mL were prepared. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were measured as the lowest concentration of treatments inhibiting the visible growth of the pathogen on the agar dish.

TOPSIS multi-index comprehensive evaluation

The TOPSIS method, which was developed by Talebanpour and Javadi (2015) as a means of ranking multi-attribute decision-making analysis, has been utilized in this study to perform a comprehensive evaluation of various indicators for tofu prepared under different treatment conditions. The objective of the evaluation was to identify the optimal treatment technique.

Results and Discussion

In this study, we conducted a comparison between the isolates generated here and sequences available in the GenBank database using the BLAST search tool, accessible at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>. *A. niger*, *P. digitatum*, *P. expansum* were identified from hazelnut, orange, and apple, respectively.

Detection of Organic acids of CFS and kefir

The Table 1. shows the concentration of four organic acids (lactic acid, acetic acid, citric acid, and formic acid) in two different samples, CFS (cell-free supernatant) and kefir. CFS has a high organic acid content and reflects the organic acid content of kefir. According to the Table 1, the concentration of lactic acid in CFS and kefir is similar (0.699 ± 0.050 g/100mL and 0.709 ± 0.033 g/100mL, respectively). Table 1. was shown that the amounts of total organic acids are >0.5%. Overall, the table suggests that lactic acid is the

most abundant organic acid in both samples, and kefir has slightly higher concentrations of acetic acid and formic acid than CFS. The concentration of citric acid is very low in both samples. However, it's important to note that the table only shows the concentration of four organic acids, and there may be other organic acids or compounds that are present in different amounts in these samples. The amount of lactic acid needed to inhibit fungal growth can vary depending on the type of fungus, the pH of the environment, and the concentration of other organic acids present. Generally, a pH of 4.0 or lower can inhibit fungal growth, and lactic acid is often used in combination with other organic acids to create a synergistic effect. In terms of specific amounts, it would depend on the application and the specific fungus being targeted. In food preservation, for example, the use of lactic acid bacteria in fermentation can result in the production of lactic acid at levels ranging from 0.5% to 2.5% (w/v) in the final product. However, in other applications such as medical treatments, higher concentrations may be required. Therefore, the appropriate amount of lactic acid to use would need to be determined based on the specific application and the intended effect. Although the organic acid values are close when kefir and CFS are compared, it is interpreted that CFS is appropriate in practice. This is thought to be the reason why they recommend CFS in the literature. Taheur et al. (2020) reported that the antifungal activity of the cell-free supernatant was found to be affected by the pH. Additional research is needed to determine the bioactive compounds present in kefir that contribute to the observed antifungal activity against mycotoxigenic strains. Further studies are also required to understand the mechanism involved in the reduction of mycotoxin levels.

Table 1. Contents organic acid of CFS and kefir (g/100 mL).

	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Formic acid
CFS	0.699±0.050	0.705±0.054	0.046±0.002	0.106±0.007 ^b
Kefir	0.709±0.033	0.728±0.037	0.047±0.001 ^d	0.127±0.005 ^{ab}

Detection of Sugar profiles of kefir and kefir

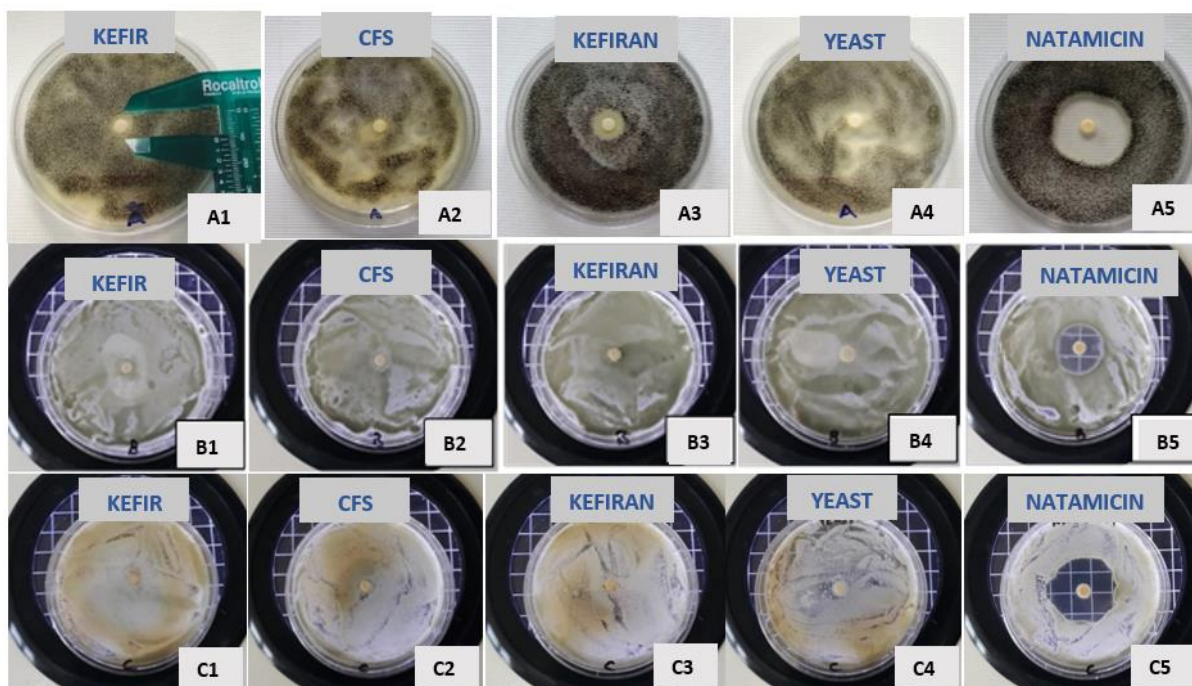
Kefiran is a polysaccharide produced by LAB during kefir fermentation, while kefir is a fermented milk product. Kefiran predominantly consists of polysaccharide structures in terms of concentration/dominance. It is responsible for the polysaccharide structure of kefir. Both samples contained significant amounts of glucose, with kefir containing more than kefiran (Table 2). Galactose was also present in both samples, but in a lower concentration than glucose.

Table 2. Contents sugar of kefir and kefir (g/100 mL).

	Glucose	Galactose	Xylose
Kefiran	0.150±0.02	0.121±0.001	0.345±0.022
Kefir	0.413±0.028	0.132±0.007	0.277±0.001

Effects on fungi with treatments of kefir and components from kefir (CFS-Kefiran-Yeast)

The study evaluated the antifungal activities of kefir and components from kefir against *Aspergillus niger* using inhibition zone assays (Figure 1). Natamycin treatment was a positive control. As can be seen in the images, the zones of kefir and kefir components were not as clear as the positive control sample. The sizes of inhibition zones were presented in Table 3. The results showed that yeast treatment resulted in the strongest antifungal activity with an inhibition zone of 19 mm, followed by kefiran treatment with an inhibition zone of 16 mm. Kefir and CFS treatments showed weaker antifungal activity with inhibition zones of 11 mm and 16 mm, respectively. The size of the inhibition zone is related to the level of antifungal activity present in the sample, and a larger inhibition zone usually means that the antimicrobial is more potent. The comparison of the inhibition zones to the control positive for natamycin showed that yeast and kefiran treatments were comparable in their antifungal activity, while kefir and CFS treatments were less effective (Figure 1).



1: Kefir, 2: CFS, 3: Kefiran, 4: Yeast, 5: Natamycin; A: *Aspergillus niger*, B: *Penicillium digitatum*, C: *Penicillium expansum*.

Figure 1. View of inhibition zone formed by kefir and compounds from kefir against *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*.

Table 3. Inhibition zone diameter formed by kefir and components from kefir against *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*.

Fungi	Inhibition zone diameter (mm)				
	Kefir	CFS	Kefiran	Yeast	Natamycin
<i>Aspergillus niger</i>	11±0.25	16±0.19	16±0.28	19±0.24	35±0.09
<i>Penicillium digitatum</i>	20±0.11	7±0.29	0.5±0.02	7±0.14	25±0.08
<i>Penicillium expansum</i>	10±0.18	9±0.17	0.5±0.02	7±0.21	27±0.09
	Percentage (%) Values of Data Based on Natamycin				
<i>Aspergillus niger</i>	31.42	45.71	45.71	54.28	100
<i>Penicillium digitatum</i>	80.00	28.00	2.00	28.00	100
<i>Penicillium expansum</i>	37.03	33.33	1.85	25.92	100

When the MIC values of kefir and components obtained from kefir are examined, it is seen in Table 3. that the effects of kefir yeasts, serum and kefir are higher, respectively, when we compare them to natamycin. It is effective in kefir, but others are more effective on this fungus (Table 4). In a study conducted by Purutoglu et al. (2020) the antifungal activities of thirty kefir isolates were tested against five different fungus species, namely *P. chrysogenum*, *A. parasiticus*, *B. cinerea*, *F. oxysporum*, and *A. niger*. The inhibition levels of these fungi species varied, with *A. niger* being the most lower by the kefir isolates. In addition, non- protein of kefir fermented with kefir grains showed antifungal activity against *A. flavus*, *P. crustosum*, *Trichoderma longibrachiatum* and *Rhizopus macrospores* (Londero et al., 2014). Previous investigations involving water kefir, a beverage produced through the fermentation of sugary solutions using kefir grains, have demonstrated its inhibitory effects on *A. ochraceus*, as evidenced by Caro and Leon (2014). Recently, abacteriocin obtained from *Lactobacillus paracasei*, isolated from kefir grains, inhibited *A. flavus*, *A. niger* and *P. glaucum* (Miao et al., 2014).

A study by Koç et al. (2018) evaluated the applicability of vinegar obtained from hazelnut shells against the growth of *A. niger* and found the vinegar useful for the prevention of fungi. None of the treatments applied above for the control of *A. niger* presented complete inhibition of the fungi.

The inhibition zone formed by kefir and components from kefir against *Penicillium digitatum* is shown in Figure 1. The size of the inhibition zone is presented in Table 3. The size of the inhibition zone formed by kefir and kefir-derived compounds against *P. digitatum* is measured between 0 and 20 mm. Compared to control

positive for natamycin, the most efficient but unclear 20 mm inhibition zone against *P. digitatum* was obtained by kefir treatment followed by CFS and yeast treatments, respectively. Results indicated that the treatment of kefir against this fungi is not potent.

P. digitatum, which is the fungus tested, is a pathogenic fungus that can cause fruit decay. There is no literature on the effect of kefir on this mould species.

The study likely aimed to identify potential natural antifungal agents that could be used as alternatives to synthetic fungicides. It's important to note that the results of this study should be interpreted within the context of the specific experimental conditions used. The effectiveness of these substances against *P. digitatum* may vary depending on factors such as concentration, application method, and the specific strain of the fungus being tested. Additionally, further research would be needed to determine the safety and efficacy of using these substances in practical applications, such as in agricultural settings. Overall, the results suggest that kefir, kefir-derived compounds, and yeast may have potential as natural antifungal agents against *P. digitatum*, although natamycin remains the most effective substance tested in this study.

According to Table 3, you provided, kefir was tested and found to have an inhibition zone (20±0.11 mm) against *P. digitatum*, which suggests that kefir has antifungal properties and may be effective in inhibiting the growth of this particular fungus. However, it's important to note that this result was obtained under specific experimental conditions, and further research would be needed to determine the optimal concentration and application method for using kefir as an antifungal agent in practical settings (Table 4).

Table 4. Kefir and components from kefir MIC analysis on the *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*.

		MIC Values (µg mL ⁻¹)											
		10	5	2	1	0.7	0.5	0.4	0.3	0.25	0.2	0.1	0.05
<i>Aspergillus niger</i>	Natamycin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Kefir	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	CFS	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Kefiran	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Yeast	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Penicillium digitatum</i>	Natamycin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Kefir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	CFS	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	Kefiran	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Yeast	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium expansum</i>	Natamycin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Kefir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	CFS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Kefiran	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Yeast	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

It's important to note that the effectiveness of kefir and other substances against *P. digitatum* may vary depending on factors such as concentration, application method, and the specific strain of the fungus being tested. Additionally, further research would be needed to determine the safety and efficacy of using kefir as an antifungal agent in practical applications.

Bazioli et al. (2019) indicated that decay reduction of 41.7% and 19.8% was observed by the *Saccharomyces crataegensis* and sodium bicarbonate, respectively.

Blue fungi caused by *P. expansum* is one of the most crucial postharvest diseases in apple and synthetic fungicides are the most common method of combating it (Guerrero et al. 2014). Alternatives such as oxidative treatments, volatiles, heat applications, microorganisms and etc. to chemical control are still under investigation and some of them are proven to be as effective as chemical fungicides. The inhibition zones formed by kefir and kefir-derived compounds against *Penicillium expansum* are shown in Figure 1. The size of the inhibition zone is presented in Table 3. The sizes of the inhibition zone formed by kefir and kefir-kefir-derived compounds against *P. expansum* are between 0 and 10 mm. The most efficient inhibition

zone which is 10 mm in diameter was obtained by kefir treatment compared to control positive for natamycin. Yeast treatment was found to be also effective against the growth of *P. expansum* fungi. Results of the study have shown that the treatment of kefir against this fungi is not potent.

Table 3. shows the inhibition zone diameter in millimeters (mm) formed by different substances against *P. expansum*, which is a type of fungi that can cause postharvest decay in fruit. The substances tested include kefir, kefir-derived compounds (CFS and kefiran), yeast, and natamycin. The results indicate that all of the substances tested were able to inhibit the growth of *P. expansum* to some extent. The largest inhibition zone diameter was observed for natamycin, which was 27 ± 0.09 mm. The inhibition zone diameter for kefir was 10 ± 0.18 mm, which is 37.03% of the inhibition observed for natamycin. The components from kefir (CFS and kefiran) and yeast had smaller inhibition zone diameters, at 9 ± 0.17 mm and 7 ± 0.21 mm, respectively. However, these values were still significant compared to the control (no substance added).

Overall, the results suggest that kefir, components from kefir, and yeast may have potential as natural antifungal agents against *P. expansum*, although natamycin remains the most effective substance tested in this study (Table 4.).

Mesías et al. (2021) presented that BIO 126 strain of *Metschnikowia pulcherrima* is very effective as a biocontrol agent in the control of *P. expansum*. Several volatile compounds obtained from plants were evaluated by Buonsenso et al. (2023) for their effectiveness against *P. expansum* in *in vivo* and *in vitro* tests. Among the compounds tested, trans-2-hexenal vapor treatments showed the best control against *P. expansum*. Oxidative treatments such as sodium hypochlorite and hydrogen peroxide were applied by Cerioni et al. (2013) in the control of *P. expansum* and the results showed they can be alternative treatments for apple postharvest diseases. Guerrero et al. (2014) showed that in control of postharvest diseases on apple caused by *P. expansum*, strains of *C. oleophila* performed similar to those of synthetic fungicide.

Among the treatments applied against *A. niger*, two samples have reduced the growth of the fungus and some of them completely inhibited *A. niger* (Figure 1). A total inhibition (100%) was obtained with the kefir on *A. niger*. Figure 1. presents fungi count results showing the effects of kefir and components from kefir obtained during the activation stage of *A. niger* ($6.21 \log \text{ cfu/mL}$), *P. digitatum* ($6.09 \log \text{ cfu/mL}$) and *P. expansum* ($6.35 \log \text{ cfu/mL}$). Erdogan et al. (2019) according to the study report, all fungi were inhibited in the stools of mice fed kefir. Taheur et al. (2020) reported that kefir inhibited the growth of *A. favus* and *A. carbonarius* by 93.88% and 100%, respectively.

Kefir grains house a complex community of microorganisms, including lactic acid bacteria (such as Lactobacilli, Lactococci, and Leuconostocs), acetic acid bacteria, and yeast, which coexist symbiotically within a polysaccharide matrix, as described by Oliveira et al. in 2019. This microbiota is responsible for generating a range of compounds, including amino acids, peptides, ethanol, acetaldehyde, bacteriocins, exopolysaccharides, acetoin, calcium, folic acid, acetic acid, and various vitamins. Furthermore, the inhibitory effects of kefir against different fungi have been documented in previous studies (Londero et al., 2014; Gamba et al., 2016; Al-Mohammadi et al., 2021). For instance, Al-Mohammadi et al. (2021) demonstrated the inhibitory impact of kefir on the growth of *A. favus*. Our findings align with prior research involving the use of CFS from whey fermented with CIDCA AGK10 grains, which demonstrated a reduction in the germination of conidia from *Rhizopus* sp., *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. flavus*, and *A. parasiticus*, as reported by Londero et al. (2014). Similarly, analogous CFS obtained from kefir products exhibited antifungal properties against *A. flavus* AH3 and *Fusarium graminearum* CZ, as indicated by Al-Mohammadi et al. (2021). Furthermore, Caro and León (2014) demonstrated that CFS derived from 'panela' (a product obtained from unrefined sugarcane) fermented with water kefir grains led to a decrease in the growth parameters of *A. ochraceus* AFUNL9.

Multi-index comprehensive evaluation of TOPSIS on effective of treatments

In this study, the impact of four different treatments on the growth of fungal pathogens, specifically *A. niger*, *P. digitatum*, and *P. expansum*, were compared. To determine the optimal treatment conditions, the

TOPSIS method was employed, which is a well-established approach for resolving issues associated with multi-property decision analysis with finite alternatives, as outlined by Chen (2019). Before to ranking the treatments, the original data were normalized via the TOPSIS method to address differences in property dimensions and units of measurement. The antifungal effects of kefir and kefir-derived compounds on three different fungal species were evaluated using the TOPSIS method, and the results are presented in Table 5., indicated that kefir treatment demonstrated the highest C_i value, suggesting that it is the most effective treatment for improving pathogen preservation. The TOPSIS method is increasingly being utilized in the field of food processing due to its simplicity, ease of understanding, and ability to integrate with other methods, such as food safety evaluations. For instance, Gul et al. (2018) utilized the TOPSIS method to ascertain the ideal hazelnut cake concentration and HPH (High-Pressure Homogenization) conditions for the production of hazelnut milk. Similarly, Ansarifar et al. (2015) applied the TOPSIS method to assess the impact of chitosan on deep-fried Kurdish cheese nuggets and to optimize the deep-frying parameters. Consequently, the TOPSIS method has significant potential for utilization within the food processing sector.

Table 5. The antifungal effects of kefir and components from kefir on three different fungi have been investigated by TOPSIS method.

	D^+	D^-	C_i	Ranking
Natamisin	0	0.307450486	1	1
Kefir	0.188659336	0.164432835	0.465693801	2
CFS	0.220844167	0.08789481	0.284689712	4
Kefiran	0.297973461	0.025829534	0.079769286	5
Yeast	0.220454316	0.091283945	0.292822397	3

Note: D^+ was the distance between each evaluation index and the positive ideal solution; D^- was the distance between each evaluation index and the negative ideal solution; C_i represented the relative proximity.

Conclusion

In conclusion, the health benefits of kefir are well known and studies regarding antifungal effects are still in progress. In this study, the antifungal effects of kefir and kefir-derived compounds on three different fungi have been investigated. The study can not suggest the most influential treatment on for preventing fungi growth, because every treatment has specific effects on the fungus tested. Based on the results of the study, kefir and kefir-derived compounds exhibit biocontrol activity against isolated fungi from selected fruits. Results suggest that kefir obtained from kefir grains could be used against *A. niger*, *P. digitatum* and *P. expansum*. The findings demonstrated a notable level of antifungal effectiveness, suggesting the potential utility of kefir in biocontrolling *P. digitatum*. Moreover, both CFS and yeast strains isolated from kefir grains hold promise for inhibiting the growth of *P. expansum*. In a commercially viable and effective alternative control method, specific fungus that can cause deteriorations in products must be identified and an than application that has positive inhibitory effects against fungus must be studied *in vitro* and tested on the products.

Acknowledgments

This work was supported by the financial support for this work from Scientific Research Commission at Suleyman Demirel University Project 4870-YL2-17 is gratefully acknowledged.

Author Contributions

Tuğba Kök Taş wrote the first draft of the manuscript. Tuğba Kök Taş, Kübra Küçüksoku, Nilüfer Sena Aydoğdu and Meryem Ateş made substantial scientific contributions. All the authors approved the final version of the manuscript, which has been revised by a professional native English translator/editor.

Conflict of Interest

As the authors of this study, we declare that we do not have any conflict of interest statement.

Ethics Committee Approval

As the authors of this study, we confirm that we do not have any ethics committee approval.

References

- Al-Mohammadi, A.R., Ibrahim, R.A., Moustafa, A.H., Ismaiel, A.A., Abou Zeid, A., & Enan, G. (2021). Chemical constitution and antimicrobial activity of kefir fermented beverage. *Molecules*, 26(9), 2635. <https://doi.org/10.3390/molecules26092635>
- Ansarifar, E., Shahidi, F., Mohebbi, M., Razavi, S. M., & Ansarifar, J. (2015). A new technique to evaluate the effect of chitosan on properties of deep-fried Kurdish cheese nuggets by TOPSIS. *LWT-food Science and Technology*, 62(2), 1211-1219. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.051>
- Azizkhani, M., Saris, P. E. J., & Baniasadi, M. (2021). An in-vitro assessment of antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 406-415. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00645-4>
- Bazioli, J.M., Belinato, J.R., Costa, J.H., Akiyama, D.Y., Pontes, J.G.D.M., Kupper, K.C., & Fill T.P. (2019). Biological control of citrus postharvest phytopathogens. *Toxins*, 11(8), 460. <https://doi.org/10.3390/toxins11080460>
- Buonsenso, F., Schiavon G., & Spadaro D. (2023). Efficacy and mechanisms of action of essential oils' vapours against blue mould on apples caused by *Penicillium expansum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2900. doi: 10.3390/ijms24032900
- Caro, A., & León A. (2014). Fungal growth inhibition of *Aspergillus ochraceus* with “Panela” fermented with water kefir grains. *Vitae Colombia*, 21(3), 191-200.
- Cerioni, L., de los Ángeles Lazarte, M., Villegas, J. M., Rodríguez-Montelongo, L., & Volentini, S. I. (2013). Inhibition of *Penicillium expansum* by an oxidative treatment. *Food microbiology*, 33(2), 298-301. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.011>
- Chen, P. (2019). Effects of normalization on the entropy-based TOPSIS method. *Expert Systems with Applications*, 136, 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2019.06.035>
- Duran, F. E., Özdemir, N., Güneşer, O., & Köktaş, T. (2022). Prominent strains of kefir grains in the formation of volatile compound profile in milk medium; the role of *Lactobacillus kefirianofaciens* subsp. *kefirianofaciens*, *Lentilactobacillus kefir* and *Lentilactobacillus parakefir*. *European Food Research and Technology*, 248(4), 975-989. doi: 10.1007/s00217-021-03936-2.
- Erdogan, F. S., Ozarlan, S., Guzel-Seydim, Z. B., & Kök Taş, T. (2019). The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice. *Food Research International*, 115, 408-413. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.080>
- Fouad, M. T., Moustafa, A., Hussein, L., Romeilah, R., & Gouda, M. (2015). In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of selected fruit and vegetable juices and fermented dairy products commonly consumed in Egypt. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(2), 541-550.
- Gamba, R. R., Caro, C. A., Martínez, O. L., Moretti, A. F., Giannuzzi, L., De Antoni, G. L., & Peláez, A. L. (2016). Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas. *International Journal of Food Microbiology*, 235, 85-92 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.038>
- Gamba, R.R., C. Ni Colo, M. Correa, A.L., & Astoreca, T.M. Alconada Magliano, G. De Antoni and Á. León Peláez. (2015). Antifungal activity against *Aspergillus parasiticus* of supernatants from whey permeates fermented with kefir grains. *Advances in Microbiology* 5:6. DOI: [10.4236/aim.2015.56049](https://doi.org/10.4236/aim.2015.56049)
- Gonda, M., Garmendia, G., Rufo, C., León Peláez, Á., Wisniewski, M., Droby, S., & Vero, S. (2019). Biocontrol of *Aspergillus flavus* in ensiled sorghum by water kefir microorganisms. *Microorganisms*, 7(8), 253. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080253>
- González-Estrada, R., F. Blancas-Benítez, B. Montaña-Leyva, C. reno-Hernández, L.D.C. Romero-Islas, J. Romero-Islas., & P. Gutierrez-Martinez. (2018). A review: Study on the postharvest decay control of fruit by *Trichoderma*. *Trichoderma-The Most Widely Used Fungicide*.
- González-Orozco, B. D., García-Cano, I., Jiménez-Flores, R., & Álvarez, V. B. (2022). Invited review: Milk kefir microbiota—Direct and indirect antimicrobial effects. *Journal of Dairy Science*, 105(5), 3703-3715. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21382>
- Guerrero, V., Guigon, C., Berlanga, D., & D. Ojeda. (2014). Complete control of *Penicillium expansum* on apple fruit using a combination of antagonistic yeast *Candida oleophila*. *Chilean journal of agricultural research*, 74(4), 427-431. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392014000400008>
- Gül, O., Atalar, I., Mortas, M., Saricaoglu F.T., & Yazıcı, F. (2018). Application of TOPSIS methodology to determine optimum hazelnut cake concentration and high pressure homogenization condition for hazelnut milk production based on physicochemical, structural and sensory properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 2404-2415.

- Halıcı, M.G., & Güllü M. (2024). A macrofungus taxon that is commonly eaten by the folk in Central Anatolia but never reported from Türkiye: *Agaricus pequinii* (Boud.) Konrad & Maubl. *Biological Diversity and Conservation* 17(1), 1-6. DOI: 10.46309/biodicon.2023.1252319
- Kim, D.H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I.B., Chon, J.W., Song, K.Y., & Seo, K.H.. (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean journal for food science of animal resources*, 36(6), 787. doi: [10.5851/kosfa.2016.36.6.787](https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.6.787)
- Koç, İ., Yardım, E.N., Çelik, A., Mendeş, M., Mirtağoğlu H., & Namlı A.. (2018). Fındık kabuklarından elde edilmiş odun sirketinin *in vitro* şartlarında küf etmenlerine karşı antifungal etkisinin belirlenmesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 296-300. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.425809>
- Koçak, Ç., Çubuk Demiralay, E., Özarslan, S., Aydoğdu N.S., & Kök Taş, T. (2021). Determination of monosaccharide composition of kefiran using HPLC. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 71(1), 49-59. Doi: 10.15567/Mljekarstvo.2021.0105
- Lakshmi, T. S., MaryPramela, A., & Iyer, P. (2017). Anti-microbial, anti-fungal and anti-carcinogenic properties of coconut milk kefir. *Int. J. Home Sci*, 3, 365-369.
- Londero, A., León, A., Diosma, G., De Antoni, G., Abraham, A., & Garrote G.. (2014). Fermented whey as poultry feed additive to prevent fungal contamination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3189-3194. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6669>
- Mesías, F.J., Martín, A., & Hernández, A. (2021). Consumers' growing appetite for natural foods: Perceptions towards the use of natural preservatives in fresh fruit. *Food Research International*, 150, 110749. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110749>.
- Miao, J., Guo, H., Ou, Y., Liu, G., Fang, X., Liao, Z., Ke, C., Chen, Y., Zhao, L., & Cao Y.. (2014). purification and characterization of bacteriocin F1, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. tolerans FX-6 from tibetan kefir, a traditional fermented milk from Tibet, China. *Food Control*, 42, 48-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.041>
- Moradi, Z., & Kalanpour, N. (2019). Kefiran, a branched polysaccharide: Preparation, properties and applications: A review. *Carbohydrate polymers*, 223, 115100. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115100>
- Moure, M. C., Pérez Torrado, R., Garmendia, G., Vero, S., Querol, A., Alconada, T., & León Peláez, Á. (2023). Characterization of kefir yeasts with antifungal capacity against *Aspergillus* species. *International Microbiology*, 26(2), 361-370. <https://doi.org/10.1007/s10123-022-00296-z>
- Oliveira, A. P., dos Santos, G. A., Nomura, C. S., & Naozuka, J. (2019). Elemental chemical composition of products derived from kefir fermented milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 78, 86-90. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.02.00>
- Purutoğlu, K., İspirli, H., Yüzer, M.O., Serencam, H., & Dertli E. (2020). Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*. 73(1) <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12633>.
- Sharifi, M., Moridnia, A., Mortazavi, D., Salehi, M., Bagheri, M., & Sheikhi, A. (2017). Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. *Medical Oncology*, 34, 1-7. DOI 10.1007/s12032-017-1044-9
- Taheur, F.B., Mansour, C., & Chaie, K. (2020). Inhibitory effect of kefir on *Aspergillus* growth and mycotoxin production. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, 5, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s41207-020-0141-x>
- Talebanpour, R., & Javadi, M. (2015). Decision-making for flexible manufacturing systems using DEMATEL and SAW. *Decision Science Letters*, 4(3), 363-372.
- Wang, J., Vanga, S.K., Saxena, R., Orsat V., & Raghavan, V. (2018). Effect of climate change on the yield of cereal crops: A review. *Climate*, 6(2), 41. <https://doi.org/10.3390/cli6020041>
- Zhimo, V.Y., Biasi, A, Kumar, A., Feygenberg, O., Salim, S., Vero S., & Droby, S. (2020). Yeasts and bacterial consortia from kefir grains are effective biocontrol agents of postharvest diseases of fruits. *Microorganisms*, 8(3), 428. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030428>

Isparta Gülü ile Üretilen Kombucha İçeceğinin Fizikokimyasal, Fonksiyonel ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi

Nimet ÇAKIROĞLU¹  Kader ORAL¹  Bilge ERTEKİN FİLİZ¹ 

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 76644, ISPARTA-TÜRKİYE

Öz

Kombucha, siyah çay ve şeker içeren sulu çözeltinin fermente edilmesi ile üretilen, sağlık üzerine olumlu etkileri üzerinde durulan bir içecektir. Bu çalışmada Kombucha kültürü ve gül yaprakları (*Rosa damascena* Mill) kullanılarak fonksiyonel bir içecek (GK) geliştirilmiştir. Ayrıca kontrol örneği olarak siyah çaylı kombucha içeceğinin (CK) üretimi yapılmıştır. Üretilen içeceklerin fizikokimyasal özellikleri mikrobiyolojik, duyuşsal, antioksidan özellikleri (ORAC-TEAC), fenolik içeriği ve organik asit içeriği incelenmiştir. Aynı zamanda fermantasyonda kültür olarak kullanılan kombucha biyofilmlerinin biyokütle artışı belirlenmiştir. Biyokütle artışı siyah çaylı fermantasyon ortamında %105 olarak belirlenmiştir. Örneklerde laktobasil sayısı 4.11-5.75; laktokok sayısı 3.06-6.49; maya sayısı 4.42-5.04; asetik asit bakteri sayısı 3.69-4.51 log kob/mL aralıklarında belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları CK örneğinde 405 mg GAE/L ve GK örneğinde 123 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir. ORAC ve TEAC değerleri CK örneğinde 9.00 ve 2.53 µmol TE/mL olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Örneklerde organik asitlerden asetik asit baskın asit olarak tespit edilirken, yanı sıra oksalik, malik, ve laktik asitler bulunmuştur. Fenolik bileşenlerden gallik asit, klorojenik asit, gallokateşin örneklerde tespit edilmiştir. CK örneğinde kafein miktarı 35.48 mg/L olarak belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmede GK örneği, panelistler tarafından daha fazla beğeni almıştır. Çalışmanın sonucunda, Isparta gül yapraklarının kombucha üretiminde, duyuşsal açıdan kabul edilebilirliği yüksek bir ürün olarak başarıyla kullanılabilceği bulunmuştur.

Article Info

Received: 06.12.2024

Accepted: 13.12.2024

Anahtar Kelimeler

Antioksidan
Fenolik bileşen
Isparta gülü
Kombucha
Probiyotik

Determination of The Physicochemical, Functional and Sensory Properties of Kombucha Beverage Produced with Isparta Rose

Abstract

Kombucha is a beverage produced by fermenting an solution containing black tea and sugar, and its health benefits have been emphasised. In this study, a functional drink (GK) was developed using kombucha culture and rose petals (*Rosa damascena* Mill). In addition, a black tea Kombucha drink (CK) was produced as control sample. The physicochemical, microbiological, sensory, antioxidant (ORAC-TEAC), phenolic and organic acid contents of the beverages were analysed. Meanwhile, the biomass increase of Kombucha biofilms used as culture in the fermentation was determined. The biomass increase was determined to be 105% in the black tea medium. The number of lactobacilli 4.11-5.75; lactococci 3.06-6.49; yeast 4.42-5.04; acetic acid bacteria 3.69-4.51 log cfu/mL were determined in the samples. The total phenolic content was determined to be 405 mg GAE/L in the CK sample and 123 mg GAE/L in the GK sample. The ORAC and TEAC values were found to be 9.00 and 2.53 µmol TE/mL higher in the CK sample ($p < 0.05$). Among the organic acids, acetic acid was found to be the dominant acid, while oxalic, malic and lactic acids were also found in the samples. Among the phenolic compounds, gallic acid, chlorogenic acid and galloocatechin were found in the samples. The amount of caffeine in the CK sample was 35.48 mg/L. In the sensory evaluation, the GK sample was more appreciated by the panelists. As a result of the study, it was found that Isparta rose petals can be successfully used in Kombucha production as a product with high sensory acceptability.

Keywords

Antioxidant
Isparta rose
Kombucha
Phenolic compounds
Probiotic

 Corresponding Author
bilgefiliz@sdu.edu.tr

Giriş

Son yıllarda doğal, sağlıklı, fonksiyonel gıdalara olan tüketici talebi önemli düzeyde artış göstermektedir. Bu doğrultuda modern gıda pazarı için fermente gıdaların da dahil olduğu yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi, son yılların ana eğilimidir (Leroy ve Vuyst, 2014).

Fermente ürünler, içerdikleri mikroorganizmalar sayesinde doğrudan (probiyotik etki) ve fermantasyon sürecinde üretilen metabolitler sayesinde dolaylı (biyojenik etki) olarak konakçı sağlığına olumlu etkileri sahip olmaları nedeniyle fonksiyonel gıda çerçevesinde değerlendirilmektedir (Stanton vd., 2005). Fermente gıdaların, başta bağırsak mikrobiyotası olmak üzere, vücudun farklı bölgeleri üzerinde olumlu etkiler göstererek, sağlıklı bir yaşamı desteklediği ve çeşitli hastalıklara karşı vücudu koruyabildiği belirtilmektedir (Dimidi vd., 2019). Fermantasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar ürüne probiyotik özellik sağlayarak, bağırsak sağlığını olumlu etkileyebilmektedir. Fermente gıdalar, fermente olmayan gıdalara göre besin öğeleri ve sindirilebilirlik bakımından avantajlıdır. Fermantasyon sırasında oluşan metabolitler gıdanın raf ömrünü uzatmakla kalmayıp, ayrıca ürüne üstün besleyici nitelikler kazandırmaktadır (Palamutoğlu ve Baş, 2020). Batılı ülkelerde süt temeli probiyotik ve fermente ürünler daha yaygın olarak üretilip tüketilmektedir. Bununla birlikte süt ürünlerinden kaynaklanabilen laktoz alerjisi, süt proteini alerjisi gibi sağlık sorunları yanında, vegan tüketicilerin alternatif probiyotik ürün arayışı süt temelli olmayan probiyotik ürünlere ilgiyi arttırmaktadır (Kandyliş vd., 2021).

Kombucha, şeker ve çaydan bakteri ve mayaların simbiyotik aktivitesi ile oluşan fonksiyonel özelliklere sahip fermente bir içecektir (Dufresne ve Farnworth, 2000; Jayabalan vd., 2014; Malbaşa vd., 2006). Kombucha, dünya çapında geleneksel fermente gıdalar arasında popülerdir. Çin orijinli olan Kombucha içeceği, Rusya ve Avrupa'ya yayılmıştır. Kombucha içeceği, şeker ve çayın substrat olarak kullanıldığı sulu ortamda yaklaşık olarak 7-14 gün boyunca maya ve asetik asit bakterileri tarafından fermente edilerek üretilir (Fu vd., 2014). Fermantasyonda kültür olarak kullanılan selülozik bir yapı olan Kombucha biyofilm, pelikül, SCOBY (Symbiotic Community of Bacteria and Yeast-Simbiyotik Bakteri ve Maya Topluluğu) gibi çeşitli isimlerle anılmaktadır. Kombucha fermantasyonu sırasında sıvı-hava ara yüzeyinde mikrobiyal aktivite sonucu oluşan bu yapı sonraki fermantasyonlar için inokulum olarak kullanılabilir ve fermantasyon süresinin uzaması ile çok katmanlı bir hal alabilmektedir. Bu yapının fazlasının bakteriyel selüloz olarak hayvan yemlerinde, çeşitli gıdalara katkı olarak, yağ ikamesi olarak, ambalaj materyali olarak kullanıma potansiyelini değerlendiren bilimsel çalışmalar yapılmıştır (Tamer vd., 2022). Kombucha içeceği, polifenoller, şekerler, organik asitler, etanol, suda çözünen vitaminler ve fermantasyon sırasında üretilen çeşitli mikrobiosinlere ek olarak, laktik asit bakterileri gibi bazı probiyotik özellikli mikroorganizmaları içermektedir. Maya hücreleri, sükrozu glikoz ve fruktoza hidrolize ederek, etanol üretirken; asetik asit bakterileri ise glikozu asetik aside dönüştürürler. Fermantasyon sırasında üretilen organik asitler yüzünden kombucha pH'sında azalma olurken, içeceğe hafif asidik ve tatlımsı lezzet kazandırmaktadırlar. Ayrıca oluşan az miktardaki karbon dioksit, ürüne ferahlatıcı lezzet katmaktadır (Talebi vd., 2017).

Kombucha içeceği geleneksel olarak siyah çay ile üretilmekle birlikte, asidik tadından ötürü içiminin zor olduğu ya da her damak tadına hitap etmediği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir. Daha hoşta giden tatta ürünler üretmenin yanı sıra fonksiyonel ürün çeşitliliğinin artırılması amacıyla kombucha içeceğinin farklı ham maddeler kullanılarak üretimine yönelik akademik ve ticari çalışmalar artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda yeşil çay, ıhlamur, ada çayı, yaban mersini, elma, kuş burnu ve nar gibi farklı ekstraktlar (Tarhan, 2017), yeşil, siyah ve rooibos çayları (Gaggia vd., 2019), meşe yaprağı (Vázquez-Cabral vd., 2014), civanperçemi (Vitas vd., 2020), karayemiş, siyah havuç, güvem ve ahududu (Ulusoy, 2019); kırmızı havuç, kırmızı pancar ve mor lahana (Akarca ve Tomar, 2020), ıspanak ve brokoli (Susilowati vd., 2017), yılan meyvesi (Zubaidah vd., 2018); nar suyu (Yavari vd., 2018), üzüm suyu (Ayed vd., 2017), elma suyu ve çay kombinasyonu (Liamkaew vd., 2016) kullanılarak kombucha kültürü ile fermente ürünler üretilmiş, ürünlerde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, duyusal ve antioksidan özellikler incelenmiştir.

Rosaceae familyasının *Rosa* cinsine ait bir bitki olan Gül, mitolojik, dini ve kültürel öneminin yanında kozmetik, kimya, ilaç endüstrisi için önemli bir hammaddedir, bunun yanında hoşça giden tat ve aroması ile yenilebilir bir çiçek olarak gıda endüstrisinde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Güneş ve Akcan, 2022). Dünyanın en büyük gül yağı üreticisi olan Türkiye'de yağlık gül yalnızca Isparta çevresinde yetiştirilmektedir. Isparta güllü (*Rosa damascena* Mill.) olarak bilinen çeşit gıda endüstrisinde likör, şekerleme-lokum, puding sakızlarda kullanılmaktadır. Aynı çeşitten elde edilen gül suyu da hoşça giden kokusu sebebiyle çeşitli yöresel yemeklerde, tatlılarda ve şekerlemelerde kullanılmaktadır (Gökdoğan, 2013). Çeşitli bilimsel çalışmalarda Isparta güllü ekmeğe (Gül vd., 2021), dondurma külahına (Gül vd., 2024) zenginleştirme amaçlı eklenmiştir. *Damascena* gül çeşidinin çeşitli türevleri, kurabiyelere (Gül ve Tekeli, 2019; Kamali vd., 2020), keklere (Chochkov vd., 2022), Sohan isimli bir İran tatlısına (Akhavan vd., 2016) ilave edilmiştir. Süt ürünlerinden ise fermente süt içeceğine (Ivanov vd., 2023), kaju ilaveli yoğurda (Andarini vd., 2020), fermente peynir altı suyu içeceğine (Dinçoğlu ve Rugji, 2021), dondurmaya (Gülboy, 2024) katılmıştır. Özdemir ve Budak (2022) ve Ertürkmen vd. (2024) Isparta güllünü sirke üretiminde kullanmışlardır.

Yapılan çalışmalarda gül ürünlerinin zengin fenolik bileşen içeriğine, yüksek antioksidan ve antiradikal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Gül ürünlerinden gül yağında fenolik bileşiklerden epikateşin, hesperidin, klorojenik asit, gallik asit yüksek miktarda bulunmuştur (Baydar ve Göktürk Baydar, 2017).

Bu çalışmada Kombucha fermantasyonunda ham madde olarak Isparta güllü kullanılarak, duyusal özellikleri geliştirilmiş, fonksiyonel yeni bir içecek üretilmesi amaçlanmıştır. Kontrol örneği olarak siyah çayla üretilen kombucha içeceği ile geliştirilen yeni içeceğin kimyasal, fonksiyonel ve duyusal özellikleri karşılaştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Kombucha içeceklerinin üretimi

Çalışmada kullanılan sakkaroz, kristal formda (Torku, Konya-Türkiye) kullanılmıştır. Güllü kombucha içeceği (GK) üretimi için, gül yaprağı, sakkaroz, sitrik asit ve su karışımından oluşan gül mayası Fermante Gıda Ltd. Şti.'den (Isparta-Türkiye) temin edilmiştir. Siyah çaylı kombucha içeceği (CK) için siyah çay (Çaykur Tiryaki, Rize-Türkiye) yerel marketten satın alınmıştır. Her iki örnek için de kaynatılmış soğutulmuş içme suyu içerisine %5 sakkaroz çözdürülmüş, GK örneği için %1 oranında gül mayası ve CK örneği için %0.5 siyah çay şekerli su içerisine ilave edilmiştir. Oranlar daha önceki yapılan çalışmalar baz alınarak ön denemelerle belirlenmiştir. Her iki karışım da 30 dk süre ile demlenmeye ve soğumaya bırakılmıştır. Süre sonunda çaylar aseptik koşullarda süzölmüştür. Kombucha biyofilmi (SCOBY) ilavesi sonrası 14 gün boyunca etüvde 24°C sıcaklıkta, karanlık bir ortamda fermantasyona bırakılmıştır (Şekil 1). Fermantasyon sonunda aseptik koşullarda kombucha mantarı içeceklerin içerisinden çıkartılarak buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Üretilen kombucha içeceklerinin görüntüsü (Siyah çaylı kombucha-CK ve güllü kombucha-GK).

Kombucha Biyofilminin Biyokütle Artışının Belirlenmesi

Fermantasyon sırasındaki biyokütle artışını belirlemek için, selülozik yapı fermantasyon öncesi ve sonrasında aseptik olarak steril saf su ile yıkandıktan sonra, fazla suyu uzaklaştırılmış, filtre kağıdı üzerinde kurutulmuş ve tartılmıştır (Malbaşa vd., 2006). Ağırlık artışı başlangıç ağırlığına oranlanarak % olarak hesaplanmıştır.

Fizikokimyasal Analizler

Briks (Suda Çözünür Kuru Madde) Tayini: Örneklerin suda çözünür kuru madde (brix) miktarları Dijital refraktometre (HI 96801, Hanna Instruments) ile ölçülmüştür.

pH ve Toplam asitlik tayini: Örneklerin pH değerleri pHmetre (Schott Lab 860-Mainz-Almanya) ile belirlenmiştir. Titrasyon asitliğini belirlemek amacıyla 25 mL örnek 0.1 N NaOH ile pH 8.1 olana kadar titre edilmiş, titrasyon sonucunda harcanan NaOH miktarı üzerinden hesaplama yapılarak titrasyon asitliği bulunmuştur.

$$\text{Titrasyon Asitliği, \%} = \frac{(V)(f)(E)(100)}{M} \quad (1)$$

(V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı (mL); f: NaOH çözeltisinin faktörü:1; NaOH çözeltisinin normalitesi:0.1; E: 1 mL 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarı,g (Asetik asit için E=0.006005), M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı, (mL).

Renk Ölçümü: Örneklerin renk değerleri kolorimetre (Minolta CR-400, Tokyo Japonya) yardımıyla belirlenmiştir. Kolorimetrenin sıvı ölçüm kabına konulan örnekler, okuma başlığının üzerine yerleştirilerek ölçümler yapılmış ve Hunter L, a, b değerleri kaydedilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Lactobacillus spp. İçeriği: Dökme kültür yöntemi ile MRS Agar (*Lactobacillus* Agar acc. to De Man, Rogosa and Sharpe, Merck, Almanya) kullanılarak mikrobiyal ekim gerçekleştirilmiştir (Dave ve Shah, 1996). Karbondioksit inkübatöründe (CO-150, New Brunswick Scientific) 37 °C'de 48 saat inkübe edilen örneklerde 20-200 arası koloni bulunduran petriyelerdeki koloniler sayılarak, örneklerdeki *Lactobacillus* spp. sayısı hesaplanmıştır.

Lactococcus spp. İçeriği: Uygun dilüsyonlardan alınan örneklerden M17 (Merck, Almanya) agar besiyerine ekim yapılmıştır (Anonim, 1997). Anaerobik koşullar altında 37°C'de 48 saat CO₂ inkübasyon sonunda koloniler sayılmıştır.

Maya İçeriği: Uygun dilüsyonlardan 1 mL örnek steril petri kutularına aktarılmış ve üzerine laktik asit ilaveli PDA (Potato Dextrose Agar, Merck,Almanya) besiyerinden eklenmiş, 30°C sıcaklıkta 5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Halkman, 2005). İnkübasyon süresi sonunda mikroorganizma sayımları yapılmıştır.

Asetik Asit Bakteri İçeriği: Mikrofilreden geçirilerek steril hale getirilmiş cycloheximide eklenen (4 mg/L) YGC agara (Merck, Almanya) yayma kültür yöntemi ile aktarılan dilüsyonlar, 30°C sıcaklıkta 5 gün inkübe edilmiştir (Özdemir vd., 2015).

Toplam Koliform Bakteri Sayımı: Uygun dilüsyonlardan alınan örnekler Violet Red Bile (VRB) agar besiyerine ekilmiştir. 37°C'de 48 saat inkübasyon sonunda gelişen mor renkli koloniler sayılmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler

Toplam fenolik madde (TFM) analizi: Örneklerin toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Saf su ile seyreltilen örnekler sodyum karbonat (Merck, Almanya) çözeltisi ve Folin reaktifi (Folin-Ciocalteu's phenol reagent, Merck, Almanya) ilave edilmiş, 120 dakika karanlık bir ortamda bekletilen

tüplerin spektrofotometrede (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) absorpsansı 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği, gallik asit standart eğrisinden GAE/L olarak hesaplanmıştır.

Oksijen Radikal Absorbans Kapasite (ORAC) Analizi: Antioksidan kapasite tayini kinetik olarak Biotek Synergy™ HT Multi-Detection Mikroplaka Okuyucu (Winooski, Vermont, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir. Mikroplaka kuyucuklarına farklı dilüsyon aralığındaki troloks (Calbiochem-Merck, Almanya) çözeltileri ve uygun dilüsyonda hazırlanmış kombucha içecekleri ilave edilmiştir. Cihaz tarafından kuyucuklara otomatik olarak fluorescein çözeltisi (Sigma, St. Louis-ABD) ilave edilmiş ve 37 °C'de karanlıkta 30 dakika inkübasyon süresi beklenmiştir. Süre bitiminde mikroplakadaki kuyucuklara 153 mM 2.2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (Aldrich, St. Louis-ABD) çözeltisinden ilave edilerek 37 °C'de karanlıkta 90 dakika sürecek reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon süresinin her dakikasında 485–520 nm egzitasyon-emisyon dalga boyunda fluoresans okuma yapılarak Gen 5™ bilgisayar yazılım programına kaydedilmiştir. Sonuçlar µmol TE/mL olarak verilmiştir.

Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC-ABTS+) Analizi: Örneklerin toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, potasyum persülfat (Sigma, St. Louis-ABD) içeren 7 mM'lık 2.2'-azinobis (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS) (Aldrich, St. Louis-ABD) çözeltisi karanlıkta 12-16 saat reaksiyona sokularak ABTS^{•+} radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Radikal çözeltinin absorpsans değeri 734 nm dalga boyunda fosfat tamponu (Di-Sodium Hydrogen phosphate, Merck, Almanya) ile seyreltilerek 0,700'e ayarlanmıştır. Absorpsansı ayarlanmış 2 mL radikal üzerine 20 µL örnek veya farklı dilüsyon aralığında hazırlanmış troloks (Calbiochem-Merck, Almanya) çözeltileri ilave edilmiş ve 37 °C sıcaklıkta 6 dakika reaksiyonun tamamlanması beklenmiştir. Reaksiyon süresi boyunca örnek ya da standarttaki antioksidanların radikalle reaksiyonu sonucu 734 nm dalga boyunda ölçülen absorpsanslar kaydedilmiştir. Sonuçlar µmol TE/mL olarak ifade edilmiştir.

Fenolik Bileşen ve Kafein Analizi: Kombucha örneklerinde fenolik bileşen ve kafein miktarları HPLC (Shimadzu SCL-10A, Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) cihazında belirlenmiştir. HPLC cihazı; DAD dedektör, sistem kontrol ünitesi (LC 20ADvp), pompa (LC 10ADvp), gaz ayırıcı (DGU 20A) ve kolon fırını (CTO 10Avp) kısımlarından oluşmaktadır. Örneklerdeki fenolik bileşenlerden gallik asit, gallokateşin ve klorojenik asit, ile kafeinin ayrımı Gemini C18 (150x3 mm, 5 µm, 110A, Phenomenex, Kaliforniya-ABD) kolon ile gerçekleştirilmiştir. Analizde %18 asetronitril ve 50 mM o-fosforik asit içeren mobil faz kullanılmıştır. Mobil fazın pH'sı, 4.50 değerine 1 M NaOH ilavesi ile ayarlanmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C ve mobil fazın akış hızı 0.6 mL/dk'ya ayarlanmıştır. Bileşenlerin ayrımı 198 nm dalga boyunda DAD dedektör kullanılarak yapılmıştır.

Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi

Örneklerin organik asit içeriği yüksek performans sıvı faz kromatografisi (HPLC-Shimadzu SCL-10A, Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japan) ile belirlenmiştir. Çalışma koşulları C18 kolon (Inertsil ODS-3C18, 150 × 3.0 mm, 5 µm; GL Sciences Inc., Kaliforniya-ABD), 4 mM sülfirik asit (Tekkim, Türkiye) çözeltisi mobil faz, 1 mL/dakika akış hızı, 40°C kolon sıcaklığı, 20 µl enjeksiyon hacmi olarak belirlenmiştir. Örneklerdeki organik asit konsantrasyonları dış kalibrasyon yöntemiyle her bir standart için hazırlanan kalibrasyon grafiğinden elde edilen alanlar yerine konularak hesaplanmıştır. Örneklerde organik asitlerden oksalik asit (R²=0.997), laktik asit (R²=0.999), malik asit (R²=0.993) ve asetik asidin (R²=0.998) ayrımı yapılmıştır (Sanarico vd., 2003).

Duyusal Değerlendirme

Duyusal parametreler ön duyusal değerlendirme sonucu belirlenmiş ve duyusal değerlendirme formu oluşturulmuştur. Örneklerin duyusal değerlendirmesi 15 kişilik eğitilmiş bir panelist gruba uygulanan Tanımlayıcı Duyusal Analiz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler şeffaf bardaklar içerisinde su eşliğinde

eş zamanlı olarak panelistlere sunulmuş, panelistlerin örnekleri 6 (en yüksek) ve 1 (en düşük) olmak üzere puanlaması beklenmiştir.

İstatistik Analiz

Araştırma 3 tekerrür ve 2 paralel olarak planlanmıştır. Örnekler arasındaki istatistik farklılığın belirlenmesinde SPSS paket programı kullanılmıştır. Örnekler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde independent t test uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Biyokütle artışı

Kombucha biyofilmlerinin biyokütle artışı, başlangıç biyofilm ağırlığına göre kıyaslama yapıldığında siyah çaylı kombucha örneğinde %105; güllü kombucha örneğinde %50 olarak belirlenmiştir. Biyofilm üretiminden başlıca sorumlu olan grup ekzopolisakkarit üreticisi asetobakteriler ve glukonobakterilerdir. Siyah çaylı substrat ortamının bu bakteriler için azot kaynağı vb sağlaması ve gelişimlerini teşvik etmesi sebebiyle güllü substrat ortamına göre daha uygun olduğu düşünülmüştür. Laavanya vd. (2021) çay ekstraktında bulunan kafein, teofilin ve teobromin gibi bileşiklerin selülozik kompleksleri aktive ederek bakteriler tarafından selüloz üretimini uyarmaya yardımcı olduğunu bildirmişlerdir. GK örneğinin biyofilm oluşumunu destekleyen bu tür bileşenlerden yoksun olması biyofilm kütlelerinin artışının CK örneğine kıyasla daha az olmasına sebep olmuş olabilir.

Farklı substratların kombucha içeceği üretiminde kullanıldığı çeşitli çalışmalarda biyofilm ağırlıkları belirlenmiştir. Kırmızı ve mor sebzelerin kombucha içeceği üretiminde kullanıldığı çalışmada kırmızı havucun kullanıldığı içeceklerde 17.96 g olan başlangıç biyofilm ağırlığı, 21 gün fermantasyon sonunda 32.65 grama ulaşarak en yüksek artışı göstermiştir (Akarca ve Tomar, 2020). Civanperçemi ekstraktı ile hazırlanan kombucha içeceklerinde bitki içeriği yüksek olan ve süperkritik su ekstraksiyonu uygulanan örnekte 3.39 gramlık artış ile en yüksek biyokütle artışı tespit edilmiştir (Vitas vd., 2018).

Fizikokimyasal Özellikler

Başlangıç substratlarında briks (suda çözünür kuru madde) değerleri CK örneği için 5.2 ve GK örneği için 5.7 olarak belirlenmiştir. Kombucha içeceklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Fermantasyon sonunda CK içeceğinde briks daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Bunun sebebi GK örneğinde mayadan kaynaklanan şeker içeriğinin suda çözünür kuru madde içeriğine katkısından olduğu düşünülmüştür. (Giritlioğlu vd., 2020) kapari ve yeşil çaylar ile üretilen kombucha örneklerinin brix değerlerini 1.73-2.17 aralığında bulmuşlardır. Tamer vd. (2021) farklı bitki ekstraktları ile ürettikleri kombucha içeceklerinde fermantasyonun 9. gününde kontrol örneğinin briks değerini 5.00 olarak bildirmişlerdir. pH değerleri arasında farklılık olmadığı tespit edilirken, siyah çaylı kontrol örneğinin (CK) titrasyon asitliği güllü kombucha içeceğinden yüksek bulunmuştur (Çizelge 1). Daha önce kombucha içecekleri ile yapılan çalışmalarda örneklerin pH değerleri 2.60-3.52 aralığında belirtilmiştir (Ayed vd., 2017; Chu ve Chen, 2006; Güldane vd., 2017; Tarhan, 2017).

Kombucha asidik bir içecektir ve yapılan önceki çalışmalarda asetik asit başlıca olmak üzere, glukonik, glukuronik, sitrik, L-laktik, malik, tartarik, malonik, oksalik, süksinik, pürivik ve üsnik asit gibi organik asitleri içerdiği bildirilmiştir (Jayabalan vd., 2014). Başka bir çalışmada Kapari meyvesi kullanılarak üretilen kombucha çaylarında toplam asitlik miktarı %1.74-2.58 aralığında bulunmuştur (Giritlioğlu vd., 2020). Çeşitli çalışmalarda araştırmacılar kombucha örneklerinin titrasyon asitliklerini, yılan meyvesi kullanılarak üretilen kombucha içeceklerinde %0.92-1.65 (Zubaidah vd., 2018), nar suyu kullanılarak farklı sıcaklıklarda ve şeker oranlarında inkübe edilen kombucha içeceklerinde fermantasyonun 12. Gününde 12.4-26.6 g/L aralığında (Yavari vd., 2018); elma suyu ve siyah çay karışımı ile üretilen içeceklerde %4.02 (Liamkaew vd., 2016) olarak belirlenmiştir. (Vitas vd., 2020) farklı bitkilerle hazırladıkları kombucha içeceklerinde siyah çay ile hazırlanan içekte toplam asitlik miktarını yaklaşık 6.5 g/L olarak bildirmişlerdir.

Güllü ve çaylı kombucha içeceklerinin renk değerleri değerlendirildiğinde, L değeri arasındaki farklılık bulunmazken, siyah çaylı kombucha örneğinde a ve b değerleri istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tamer vd., (2021) kontrol örneğinde L a b değerlerini 21.87; 4.50; 9.63 olarak bildirmişlerdir. Kaparılı kombuchalarda ise L a b değerleri 20.94-25.36; -0.04-0.61; 2.74-4.29 aralığında bulunmuştur (Giritlioğlu vd., 2020). Kombucha üretiminde kullanılan substratlara göre kombucha içeceklerinin renk değerlerinde farklılık olabilmekte ayrıca fermantasyon sırasında ürün renginde açılma gözlemlenebilmektedir.

Tablo 1. Kombucha içeceklerinin fizikokimyasal özellikleri ve renk değerleri.

	Briks	pH	Titrasyon Asitliği (g asetik asit/100 mL)	Renk Değerleri		
				L	Hunter a	b
CK	4.3±0.29 ^b	3.02±0.13	1.87±0.05 ^a	18.08±0.21	0.18±0.02 ^a	1.06±0.02 ^a
GK	4.9±0.37 ^a	3.05±0.16	1.15±0.03 ^b	18.37±0.78	0.05±0.00 ^b	0.38±0.01 ^b

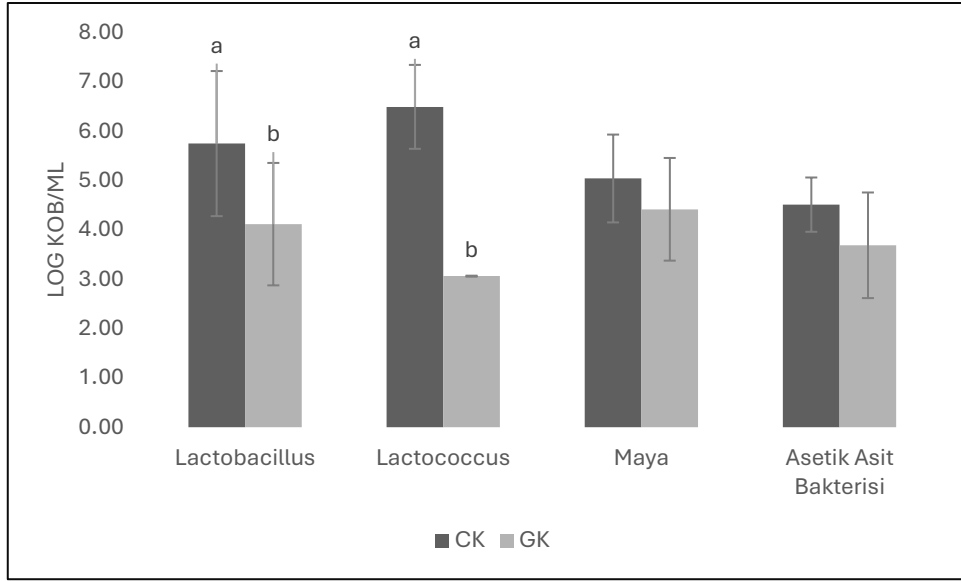
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistik olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Mikrobiyolojik İçerik

Kombucha içeceklerinin mikrobiyal kompozisyonu, gelişme ortamı ve inokulum farklılığı gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği için kesin olarak verilememekle birlikte, en fazla bulunan prokaryotlar asetobakteriler ve glukonobakteriler olarak belirtilmektedir. Mayalardan ise *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Debaromyces*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Candida*, *Koleckera*, *Mycoderma*, *Mycotorula*, *Lachancea*, *Hanseniaspora* ve *Torulospira* gibi maya türlerinin varlığı çalışmalarda bildirilmiştir (Jayabalan vd., 2014). Son yıllarda kombucha kültürünün %30'unu laktik asit bakterilerinin oluşturduğuna dair çalışmalar vardır (Nguyen vd., 2015).

Gül ve siyah çay ile üretilen kombucha içeceklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları Şekil 2'de verilmiştir. Bu çalışmada siyah çayla üretilen kontrol örneğinin mikrobiyal içerikleri güllü kombuchanın mikrobiyal içeriğinden genel olarak yüksek bulunurken, *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. sayıları arasındaki farklılık önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Koliform bakteri örneklerde tespit edilmemiştir. Siyah çaylı ortam, kombucha mantarı içerisindeki mikroorganizmaların adaptasyonunun olduğu bir substrat ortamdır, mikroorganizmaların bu ortamda daha yüksek oranlarda gelişmesi beklenen bir sonuçtur. Biyofilm ağırlıklarının CK örneğinde daha yüksek oluşu da mikroorganizma içerikleri ile uyumludur.

Değirmencioğlu vd., (2019) farklı çaylarla hazırlanan kombucha içeceklerinde asetik asit bakteri sayısını 7.77-10.66 log kob/mL aralığında bulmuşlardır. Vitas vd. (2020), laktik asit bakteri sayısını fermantasyonun 12. gününde en yüksek 5.99 log kob/mL olarak bildirmişlerdir. Akarca ve Tomar, (2020) kırmızı pancar, kırmızı havuç ve mor lahanalar kullanılarak hazırlanan kombucha çaylarında laktik asit bakterisi, Laktokok, asetik asit bakterisi, maya-küf sayılarını 3.45-3.98; 3.16-3.80; 3.92-5.70 ve 4.89-5.53 aralığında bulmuşlardır. Tamer vd., (2021) çeşitli bitki özütleri ile kombucha içecekleri ürettikleri çalışmada kombucha kültürünün mikrobiyal içeriğini 6.32 log kob/mL toplam aerobik mezofilik bakteri, 6.53 log kob/mL maya, 6.30 log kob/mL asetik asit bakterisi olarak belirlemişlerdir. Önceki çalışma sonuçlarından da görüleceği gibi kombucha içeceklerinin mikrobiyal içerikleri farklılık göstermektedir. Kombucha kültürü kendisi kompleks bir konsorsiyumdur, bunun yanı sıra içecek üretiminde kullanılan farklı substratlar ve bileşenler içeceklerin mikrobiyal içerikleri üzerinde etkili olmaktadır. Bu sonuçlara göre çayın bakterilerin gelişimi için daha uygun bir bileşen olduğu sonucu çıkarılabilir. (Güldane vd., 2017) çalışmalarında siyah ve yeşil çayda bulunan kafein ve teofilin gibi bileşenlerin hücrelerin gelişimi için azot kaynağı sağlaması nedeniyle diğer bileşenlere nazaran daha uygun bir substrat olduğunu belirtmişlerdir.

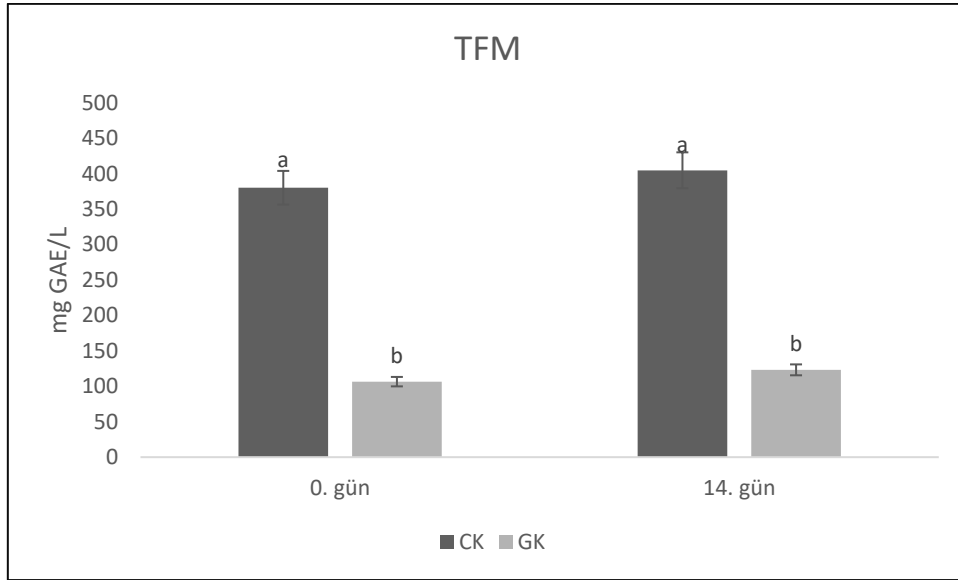


Farklı harflerle gösterilen değerler istatistik olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Şekil 2. Kombucha içeceklerinin mikrobiyal içerikleri.

Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Özellikler

Şekil 3'te örneklerin toplam fenolik madde içerikleri fermantasyon başlangıcında ve sonunda verilmiştir. Çaylı kombucha içeceklerinin toplam fenolik madde miktarı güllü kombucha içeceklerinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Buna karşın her iki örnek için de fermantasyon ile birlikte toplam fenolik madde miktarında meydana gelen artış istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Çaylı ve güllü kombucha örneklerinin fermantasyon başlangıç ve sonunda ORAC ve TEAC değerleri Şekil 4'te verilmiştir. Siyah çay ile üretilen içeceklerin ORAC ve TEAC değerleri güllü içeceklerden yüksek bulunmuştur (p<0.05). Ayrıca fermantasyon ile birlikte ORAC değerlerindeki artış her iki içekte de önemli bulunmuştur (p<0.05).



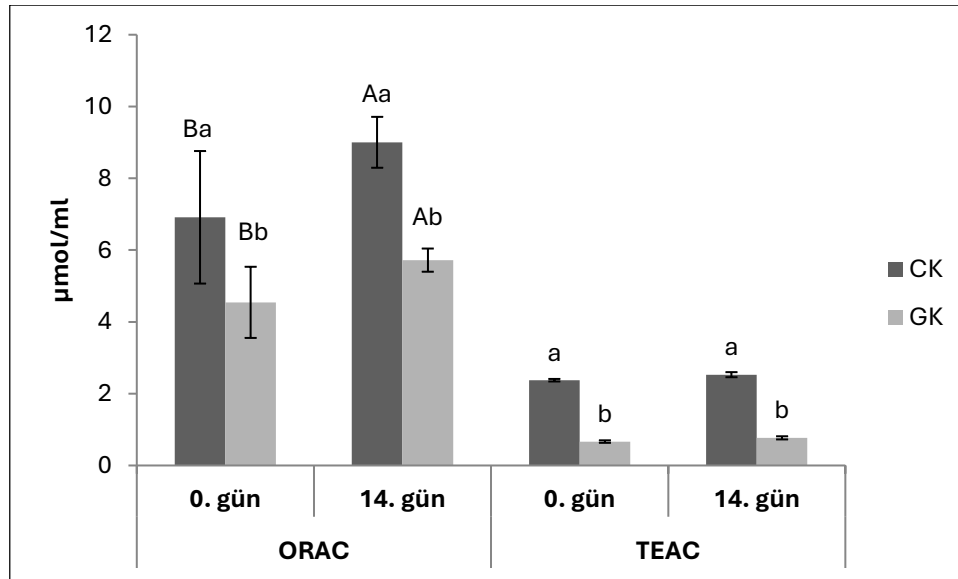
Farklı küçük harflerle gösterilen değerler örnekler arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Şekil 3. Kombucha içeceklerinin fermantasyon başlangıç ve son gününde Toplam Fenolik Madde (TFM-mg GAE/L) değerleri.

On iki gül çeşidinin yapraklarından elde edilen çayların antioksidan özelliklerinin incelendiği çalışmada *R. damascena* çeşidinden elde edilen çayın TEAC yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesi yaklaşık 1400 µM TE/g olarak referans örnek olarak incelenen yeşil çay örneğinden bir miktar yüksek bulunmuştur (Vinokur

vd., 2006). Bu çalışmada bulunan sonuçlardaki önemli farklılık materyal olarak gül yaprağının değil gül mayasının kullanılması ayrıca infüzyon koşullarının (su sıcaklığı vb.) farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Güldane vd., (2017) siyah çaylı kombuchada toplam fenolik madde miktarını yeşil çaylı ve beyaz çaylı kombuchalardan daha düşük değerler ile 228.4 olarak belirlemişlerdir. Vitas vd., (2020) 30 mg GA/L başlangıç toplam fenolik madde içeriğini 10. Günde 40 mg GA/L olarak bildirmişlerdir. 14 gün fermantasyon sonunda siyah çaylı kombuchada Toplam polifenol içeriği kuru madde bazında 67.20 mg/g olarak bildirilmiştir (Gaggia vd., 2019). Liamkaew vd., (2016) elma suyu ve siyah çay karışımı ile hazırladıkları içeceklerde toplam fenolik madde miktarını 0.75 mg GAE/mL olarak bildirmişlerdir. Keparili kombucha içeceklerinde ise ekstrakte edilebilir Toplam Fenolik Bileşen miktarı 7.19-9.69 mg GAE/g olarak bildirilmiştir (Giritlioğlu vd., 2020). Kombucha antioksidan özellikli polifenoller ve glukarik asidin önemli bir kaynağıdır (La Torre vd., 2021). Kombucha çayının, fermantasyon sırasında üretilen düşük moleküler ağırlıklı bileşenler ve çay fenoliklerinin yapısal değişimleri nedeniyle fermente edilmemiş çaydan daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmektedir (Jayabalan vd., 2014). Çay kateşinlerinin radikal süpürme yetenekleri radikal türüne bağlı olarak değişebilmektedir. Kombucha içeceklerinin antioksidan kapasitesi, 15 gün fermantasyon sonunda ABTS, DPPH ve linoleik asit peroksidasyon yüzdesi bakımından artarken, demir iyon bağlama yeteneği %81 oranında azalmıştır (Chu ve Chen, 2006). Gaggia vd., (2019) siyah çay ile ürettikleri kombucha içeceklerinin DPPH ve FRAP testleri ile inceledikleri antioksidan aktivite değerlerinde 14 gün fermantasyon sonunda istatistik olarak önemli artış bildirmişlerdir. Giritlioğlu vd., (2020) keparili kombuchaların ABTS yöntemi ile belirledikleri antioksidan kapasitelerini, bu çalışmanın bulgularından bir miktar daha yüksek değerler ile 4.46-7.06 μmol Troloks/g aralığında belirlemişlerdir.



*Farklı büyük harflerle gösterilen değerler fermantasyon günleri arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harflerle gösterilen değerler örnekler arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

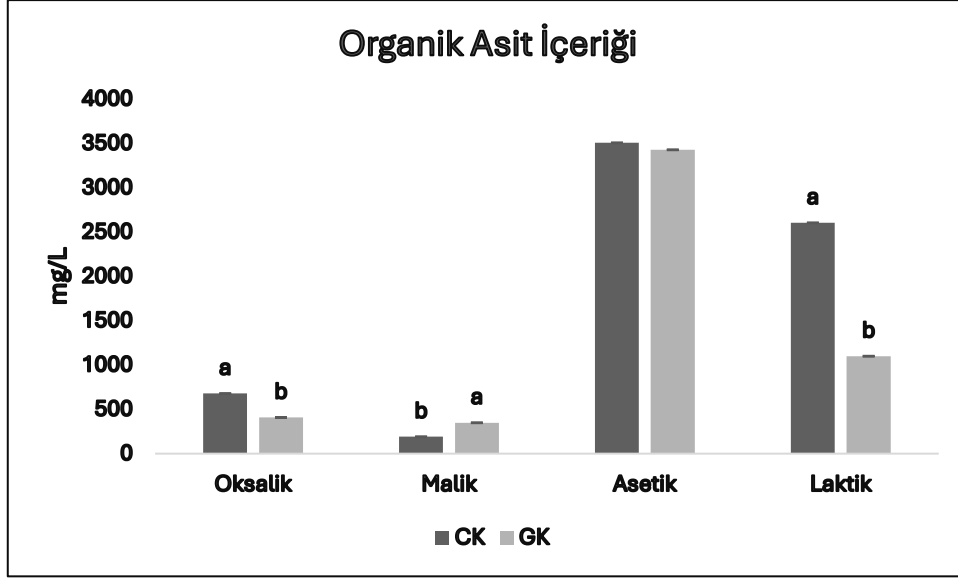
Şekil 4. Kombucha içeceklerinin fermantasyon başlangıç ve son gününde ORAC ve TEAC değerleri.

Organik Asit İçeriği

Kombucha çaylarının kimyasal analizinde organik asitlerden asetik, glukonik, sitrik, L-laktik, malik, tartarik, malonik, oksalik, süksinik, pirüvik, usinik asitlerin varlığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Bakteri ve mayaların metabolik faaliyeti sonucu şekerler etanole dönüşür, asetik asit bakterileri glukozdan glukonik asit ve etanolden asetik asit üretirler. Asetik asit temel metabolittir. (Jayabalan vd., 2014).

Bu çalışmada siyah çaylı ve güllü kombucha içeceklerinde ayrımı yapılan organik asitlerden oksalik ve laktik asit miktarları siyah çaylı örnekte istatistik olarak yüksek bulunmuştur (Şekil 5). Güllü içekte organik asitlerden yalnızca malik asit miktarı yüksek bulunmuştur. Tamer vd., (2021) yaptıkları çalışmada D-

glukoronik asit, D-glukonik asit yanında tespit etikleri laktik asit miktarını 257 mg/L asetik asit 1776 mg/L olarak bildirmişlerdir. Vitas vd., (2020) siyah çaylı kombuchalarda fermantasyonun 10. gününde 0.84 g/L asetik asit; 1.01 g/L oksalik asit, 0.52 g/L formik asit; 0.04 g/L malik asit; 0.12 g/L malonik asit tespit ederlerken; laktik asit tespit etmemişlerdir. Isparta gülünün organik asit içeriğinin incelendiği çalışmada oksalik, tartarik, malik, askorbik, asetik, sitrik, süksinik ve fumarik asitler tespit edilmiştir (Onder vd., 2022). Fermente bir gıda olan gül sirkelerinde, organik asitlerden; tartarik, askorbik, sitrik ve süksinik asidin yanı sıra oksalik asit (61 g/100 mL), malik asit (881 g/100 mL), laktik asit (3718 g/100 mL), asetik asit (31200 g/100 mL) içerikleri daha yüksek oranlarda belirlenmiştir (Özdemir ve Budak, 2022).



Farklı küçük harflerle gösterilen değerler örnekler arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Şekil 5. Kombucha içeceklerinin organik asit içerikleri (mg /L).

Fenolik Bileşen Miktarları

Bu çalışmada siyah çaylı kombuchada kafeinin yanında gallik asit ve gallokateşin, güllü kombuchada ise gallik asit ve klorojenik asidin ayrımı yapılmıştır. Bileşenler içinde en yüksek kafein miktarı bulunmuştur (Tablo2).

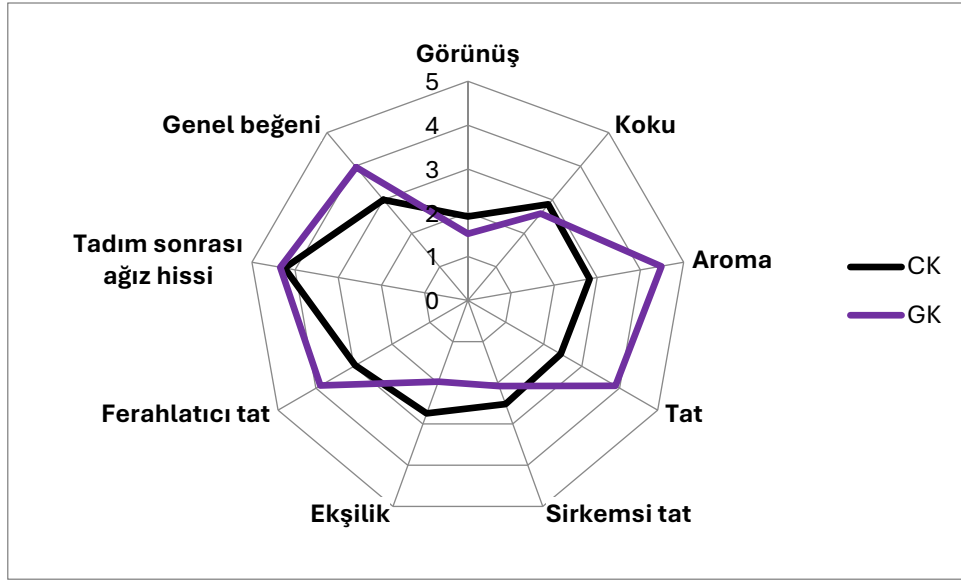
Tablo 2. Kombucha içeceklerinin fenolik bileşen ve kafein içerikleri (mg/L)

	Gallik Asit	Gallokateşin	Klorojenik Asit	Kafein
CK	14.78±2.2	4.92±0.37	-	35.48±1.58
GK	14.32±1.87	-	7.719±1.2	-

Siyah çaylı kombuchada kafein, gallik asit, epigallokateşin, kateşin, epigallokateşin gallat ve kateşin gallatin ayrımlarının yapıldığı çalışmada siyah çay ile üretilen kombuchada gallik asit 2.04 ve kafein 31.41 mg/L olarak tespit edilmiştir (Güldane vd., 2017). Onder vd., (2022), Isparta gül çiçeği yapraklarında tespit edilen gallik asit miktarı 10.90; klorojenik asit miktarı 54.80 µg/g olarak bildirmişlerdir.

Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Örneklerin duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde güllü kombucha içeceği aroma, tat, ferahlatıcı tat ve genel beğeni parametreleri bakımından siyah çaylı içecekten önemli düzeyde yüksek puanlar almıştır ($p < 0.05$). Gül yapraklarının içeceğe kattığı aroma panelistler tarafından beğeni almıştır. Isparta gülünün, kombucha içeceği'nin duyusal özelliklerini geliştirmesi ürünün sağlıklı bir fermente üründe kullanılması yeni bir kullanım alanı oluşturması ve ürünün tüketiminin yaygınlaştırılması bakımından önem arz etmektedir.



Şekil 6. Kombucha içeceklerinin duyusal değerlendirme sonuçları.

Sonuç

Bu çalışmada Isparta güllü ve siyah çay kullanılarak üretilen Kombucha içeceklerinin fizikokimyasal, duyusal özellikleri ile mikrobiyolojik, antioksidan, fenolik ve organik asit içerikleri araştırılmıştır. Kontrol örneği olarak üretilen siyah çaylı kombucha içeceğinde güllü içeceğe göre mikrobiyolojik ve antioksidan özellikler bakımından daha yüksek değerler elde edilmesine rağmen, güllü kombucha içeceği duyusal değerlendirmede panelistlerden daha yüksek beğeni almıştır. Yapılacak ileri çalışmalar ile gül yapraklı fermantasyon ortamının farklı besin maddeleri ile desteklenmesi ya da siyah çay ile kombinasyonu ile optimizasyonun yapılması ile yeni geliştirilecek içeceğin hem duyusal yönden tercih edilir hem de probiyotik bakteri ve antioksidan içerik olarak daha yüksek değerlere ulaşması sağlanabilecektir. Bu çalışma Isparta ili için önemli bir tarım ürünü olan gül için alternatif bir kullanım olanağı oluşturulması bakımından önemlidir. Ayrıca probiyotik ürünlere artan talep doğrultusunda vegan tüketicilere de hitap eden duyusal özellikleri geliştirilmiş fermente ürünler geliştirilmesi ürün çeşitliliğinin artması bakımından önemli olacaktır.

Teşekkür

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından 2209-B Üniversite Öğrencileri Sanayiye Yönelik Araştırma Projeleri Desteği Programı ile desteklenmiştir (Proje No: 1139B411801041). Projenin fikir aşamasında destek olan ve laboratuvar imkânları kullanılan Prof. Dr. Zeynep Banu SEYDİM'e, kombucha mayalarını sağlayan Dr. Çağlar GÖKIRMAKLI'ya ve projenin gerçekleştirildiği dönemde proje sanayi ortağı olan Fermante Gıda Ltd. Şti ve şirket ortağı Prof. Dr. H. Nilgün BUDAK'a teşekkür ederiz. Bu araştırmanın sonuçlarının bir kısmı International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2019)'da özet metin olarak sunulmuştur.

Yazar Katkı Oranları

Nimet Çakıroğlu; Araştırma, görselleştirme, orijinal taslak yazımı; Kader Oral; araştırma, görselleştirme, orijinal taslak yazımı, proje yönetimi, Bilge Ertekin Filiz: kavramsallaştırma, metodoloji, kaynak/materyal/malzeme temini, araştırma, görselleştirme, denetim/gözlem/tavsiye, inceleme ve düzenleme

Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bildiririz

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynaklar

- Akarca, G. & Tomar, O. (2020). Kırmızı ve mor sebzelerle hazırlanan kombucha çaylarının kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33, 215–222. <https://doi.org/10.29136/mediterranean.680360>
- Akhavan, H. R., & Mehrizi, R. Z. (2016). Effects of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) extract on chemical, microbial, and sensory properties of Sohan (an Iranian Confection) during storage. *Journal of Food Quality & Hazards Control*, 3(3).
- Andarini, F. R., Angkasa, D., Noviati, A., Melani, V., & Ronitawati, P. (2020). Development of high antioxidant yoghurt made from a mixture of Cashew (*Anacardium occidentale*) extract and red roses (*Rosa damascena*) juice. In *1st International Conference on Health*.
- Anonim (1997). IDF 149A. Dairy Starter Cultures of Lactic Acid Bacteria (LAB), Brussels, Belgium.
- Ayed, L.A, Salwa, B. & Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 67, 111–121. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>
- Baydar, H & Göktürk Baydar, N. (2017). Essential oils and phenolic compounds , antiradical and antioxidant activities of distillation products in oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill .) *Journal of Agricultural Sciences*, 23, 1–9.
- Chochkov, R., Denkova, R., Denkova, Z., Denev, P., Vasileva, I., Dessev, T., ... & Slavov, A. (2022). Utilization of industrial *Rosa damascena* Mill. by-products and cocoa pod husks as natural preservatives in muffins. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 66(1), 157-166.
- Chu, S.C. & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- Dave, R. I., & Shah, N. P. (1996). Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *bifidobacteria*. *Journal of Dairy Science*, 79(9), 1529-1536.
- Değirmencioglu, N., Yıldız, E., Şahan, Y., Güldaş, Metin & Gürbüz, O.. (2019). Fermentasyon süresinin kombucha çayı mikrobiyotası ve canlılık oranları üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(2), 200–211. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.613567>
- Dimidi, E Cox, S.R. Rosii, M. & Whelan, K. (2019). Fermented Foods : Definitions and Characteristics , Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*, 11(1806).
- Dinçoğlu, A. H., & Rugji, J. (2021). Use of rose oil in probiotic fermented whey as a functional food. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 2705-2713.
- Dufresne, C. & Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: A review. *Food Research International*. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3)
- Ertürkmen, P., Bulantekin, Ö., & Alp-Baltakesmez, D. (2024) Investigation of the potential of *Rosa damascena* vinegar fermented with probiotic lactic acid bacteria as a functional food. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 23,1.Alim24156.
- Fu, Caili Yan, Fen Cao, Zeli Xie, Fanying & Lin, Juan. (2014). Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, 34(1), 123–126.
- Gaggia, Francesca Baffoni, Loredana Galiano, Michele Nielsen, Dennis Sandris Jakobsen, Rasmus Riemer Leonardo, Josue Bosi, Sara Truzzi, Francesca Musumeci, Federica Dinelli, Giovanni & Gioia, Diana Di. (2019). Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A Comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients*, 11(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu11010001>
- Giritlioğlu, N.,Yıldız, E. & Gürbüz, O. (2020). Kombucha üretiminde kapari tomurcuklarının (*Capparis* spp.) kullanımının fenolikler, antioksidant kapasite ve biyoerişilebilirliğe etkisi. *Akademik Gıda*, 18, 390–401. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.850909>
- Gökdoğan, O. (2013). Isparta yöresinde yağ güllü yetiştiriciliğinin türkiye ekonomisindeki yeri. *Journal of Süleyman Demirel University Institute of Social Sciences Year*, 1(Special), 51–58.
- Gül, H., & Tekeli, S.G. (2019). Inclusion of *Rosa damascena* Mill. powder into cookies: nutritional, antioxidant and quality characteristics. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 3(2), 301-306.
- Gül, H., Acun, S., Hayıt, F., & Şirikçi, B.S. (2021). Geleneksel Ekşi Mayalı Isparta ekmeğinin bazı kalite karakteristikleri açısından değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 34-45.

- Gül, E. E., Biçici, A. U., Gül, H., & Acun, S. (2024). Çölyak hastaları için isparta gülü (*rosa damascena* mill.) ile zenginleştirilmiş glutensiz dondurma külahı geliştirilmesi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 12(2), 345-356.
- Gülboy, E. N. (2024). Lavanta ve gül yağı ilavesinin dondurmanın bazı kimyasal ve duyusal kalite kriterlerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 85 s.
- Güldane, M., Bayram, M., Topuz, S., Kaya, C., Gök, H.B., Bülbül, M., Koç, M. (2017). Beyaz , siyah ve yeşil çay kullanılarak üretilen kombuchaların bazı özelliklerinin belirlenmesi determination of some properties in kombucha produced with white , black and green tea. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(1), 46–56. <https://doi.org/10.13002/jafag1101>
- Güneş, Şeyma Nur & Akcan, T. (2022). Yenilebilir çiçek olarak gülün önemi ve Osmanlı mutfak kültüründeki yeri. *Aydın Gastronomy*, 6(2), 325–334. <https://doi.org/10.17932/IAU.GASTRONOMY.2017.016/gastronomy>
- Halkman, A.K. 2005. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti. 358.
- Ivanov, G., Dimitrova-Dicheva, M., Mihalev, K., & Ivanova, I. (2023). Viability of lactic acid bacteria in polyphenol-enriched fermented milks. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 58, p. 01001). EDP Sciences.
- Jayabalan, R., Malbaşa, R.V., Lončar, E.S. Vitas, J. S. & Sathishkumar, Muthuswamy. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Kamali, Z., Moazzezi, S., & Labbeiki, G. (2020). An investigation on the possibility of production of cookie containing sunflower seed meal flour and *Rosa damascena* waste extract. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 3(2), 147-159.
- Kandylis, Panagiotis Bekatorou, Argyro Dimitrellou, Dimitra Plioni, Iris & Giannopoulou, Kanella. (2021). Health promoting properties of cereal vinegars. *Foods* (Kd 10, Number 2, lk 1–30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10020344>
- Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454.
- La Torre, C., Fazio, A., Caputo, P., Plastina, P., Caroleo, M. C., Cannataro, R., & Cione, E. (2021). Effects of long-term storage on radical scavenging properties and phenolic content of kombucha from black tea. *Molecules*, 26(18), 5474.
- Leroy, F & Vuyst, L.D. (2014). Fermented food in the context of a healthy diet : how to produce novel functional foods ? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 17(6), 574–581. <https://doi.org/10.1097/MCO.000000000000108>
- Liamkaew, R., Chattrawanit, J & Danvirutai, P. (2016). *Kombucha production by combinations of black tea and apple juice. Science and Technology RMUTT Journal*, 6(2), 139–146.
- Malbaşa, R., Lončar, E. Djurić, M. Klačnja, M. Kolarov, L.J. & Markov, S. (2006). Scale-up of black tea batch fermentation by Kombucha. *Food and Bioprocess Processing*. <https://doi.org/10.1205/fbp.05061>
- Nguyen, N. K., Dong, N.T. N., Nguyen, H. T. & Le, P.H. (2015). Lactic acid bacteria: promising supplements for enhancing the biological activities of kombucha. *SpringerPlus*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0872-3>
- Onder, S., Erbas, S., Mutlucan, M. & Onder, D. (2022). Plant physiology and biochemistry investigation of phenological , primary and secondary metabolites changes during flower developmental of *Rosa damascena*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 192(July), 20–34. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.09.032>
- Özdemir, N., Kök-Taş, T., & Guzel-Seydim, Z. (2015). Effect of *Gluconacetobacter* spp. on kefir grains and kefir quality. *Food Science and Biotechnology*, 24, 99-106.
- Özdemir, N. & Budak, N.H. (2022). Bioactive compounds and volatile aroma compounds in rose (*Rosa damascena* Mill.) vinegar during the aging period. *Food Bioscience*, 50(June), 102062. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102062>
- Palamutoğlu, M. İ. & Baş, M. (2020). Traditional fermented foods of Turkey. *Journal of Health Sciences and Research*, 3(December), 200–220.
- Sanarico, D. Motta, S. Bertolini, L. & Antonelli, A. (2003). HPLC determination of organic acids in traditional balsamic vinegar of Reggio Emilia. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 26(13), 2177–2187. <https://doi.org/10.1081/JLC-120022402>
- Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G. F. & Sinderen, D.V. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.008>
- Susilowati, A. A., Aspiyanto P.D L., Hakiki, M & Yati, M. (2017). Purification and components identification on spinach (*Amaranthus sp. L.*) and Broccoli (*Brassica oleracea L.*) Fermented by kombucha culture as source of folic acid

- through stirred microfiltration cell (SMFC). *IPTEK-Journal of Proceeding Series, International Seminar on Chemistry Proceeding*, 76–88. <http://dx.doi.org/10.12962/j23546026.y2017i4.3744>
- Talebi, M., Frink, L.A., Patil, R.A. & Armstrong, D.W. (2017). Examination of the varied and changing ethanol content of commercial kombucha products. *Food Analytical Methods*, 10, 4062–4067. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0980-5>
- Tamer, C.E., Akpınar B., Özkan Karabacak, A., Durgut, S., Tunçkal, C., Bayramoğlu, G., Yolcu Ömeroğlu, P., Kamiloğlu Beştepe, S & Çopur, Ö U. (2022). Gıda sanayinde kombucha biyoselülozunun değerlendirilme olanakları. H. Gül & Hayıt F., *Gıda Mühendisliği Alanında Yeni Yaklaşımlar* (1. tr, lk 802 sayfa). İKSAD yayınevi.
- Tamer, C. E., Temel, S.G., Suna, S., Ozkan Karabacak, A., Ozcan, T., Yılmaz Ersan, L., Turkol Kaya, B. & Copur, O. U. (2021). Evaluation of bioaccessibility and functional properties of kombucha beverages fortified with different medicinal plant extracts. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(1), 13–32. <https://doi.org/10.3906/tar-2003-75>
- Tarhan, K. (2017). *Kombucha çayı üretiminde farklı substrat kaynaklarının kullanımı*. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi. 128 sayfa.
- Ulusoy, A. (2019). Karayemiş (*Prunus Laurocerasus*), Siyah havuç (*Daucus Carota L. Ssp. Sativus Var. Atorubens Alef.*), güvem (*Prunus Spinosa*) ve ahududu (*Rubus İdaeus*) kullanılarak üretilen kombucha çaylarının antioksidan aktivitelerinin araştırılması ve antosiyanin miktarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi.
- Vázquez-Cabral, B.D., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J.A., González-Herrera, S. M., González-Laredo, R. F., Moreno-Jiménez, M. R. & Córdova-Moreno, I.TS. (2014). Chemical and sensory evaluation of a functional beverage obtained from infusions of oak leaves (*Quercus resinosa*) inoculated with the kombucha consortium under different processing conditions. *Nutrafoods*. 13, 169–178. <https://doi.org/10.1007/s13749-014-0035-0>
- Vinokur, Y., Rodov, V., Reznick, N., Goldman, G., Horev, B., Umiel, N. & Friedman, H., (2006). Rose petal tea as an antioxidant-rich beverage: Cultivar effects. *Journal of Food Science*, 71(1). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb12404.x>
- Vitas, J., Vukmanović, S., Čakarević, J., Popović, L. & Malbaša, R. (2020). Kombucha fermentation of six medicinal herbs: Chemical profile and biological activity. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 26(2), 157–170. <https://doi.org/10.2298/CICEQ190708034V>
- Vitas, J. S., Cvetanovic, A. D., Maskovic, P. Z., Jaroslava, V Š & Malbasa, R.V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44(February), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.019>
- Yavari, N., Mazaheri-Assadi, M., Mazhari, Z. H., Moghadam, M. B. & Larijani, K. (2018). Glucuronic acid rich kombucha-fermented pomegranate juice. *Journal of Food Research*, 7(1), 61–69. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n1p61>
- Zubaidah, E., Dewantari, F.J., Novitasari, F.R., Srianta, I. & Blanc, P. J. (2018). Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth .) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13(September 2017), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.012>

Kentsel Arıtma Çamurunun Ispanak Bitkisinin Gelişimi ve Mineral Besin Elementi İçeriğine Etkisi

Erhan Recep İNCE¹  Figen ERASLAN İNAL¹ 

¹ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Öz

Artan dünya nüfusuyla birlikte birçok sorun da ortaya çıkmaktadır. Bunlardan bir tanesi de kentsel arıtma çamuru ve bunun bertaraf meselesidir. Bu çalışmada, artan düzeylerde uygulanan kentsel atık su arıtma çamurunun ıspanak bitkisinin (*Spinacia oleracea* cv. Matador) gelişimi ve besin elementi konsantrasyonuna etkisini belirlemek amacıyla sera koşullarında bir deneme yürütülmüştür. Denemede atık çamur uygulaması AÇ0: 0, AÇ1: 10, AÇ2: 20, AÇ3: 30, AÇ4: 40 ve AÇ5: 50 g kg⁻¹ dozlarında, tohum ekiminden önce uygulanmıştır. Deneme sonucunda bitkilerin yaş ve kuru ağırlıkları ile N, P, K, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn ve Mn konsantrasyonları belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, arıtma çamuru ıspanak bitkisinin yaş ve kuru ağırlığını ve Mg hariç N, P, K, Ca, Fe, Cu, Mn ve Zn konsantrasyonlarını önemli derecede etkilediği belirlenmiştir. Arıtma çamuru uygulaması bitkilerin yaş ve kuru ağırlığını kontrol ve AÇ1 dozu hariç önemli oranda azaltmıştır. Bitkilerin N, P ve Ca konsantrasyonları özellikle 40 ve 50 g kg⁻¹ AÇ uygulamalarında artarken, K konsantrasyonu 10 ve 20 g kg⁻¹ dozlarında azalmıştır. Bitkilerin mikro element konsantrasyonları incelendiğinde ise, Fe ve Cu konsantrasyonlarının 20 ve 30 g kg⁻¹ AÇ uygulaması ile azalırken, Zn ve Mn konsantrasyonlarının ise 40 ve 50 g kg⁻¹ AÇ uygulamaları ile arttığı belirlenmiştir.

Article Info

Received: 06.12.2024

Accepted: 24.12.2024

Anahtar Kelimeler

Bitki besin elementi
Ispanak
Kentsel arıtma çamuru
Verim

The Effect of Sewage Sludge on the Growth and Mineral Nutrient Content of Spinach

Abstract

With the increasing world population, many problems arise. One of them is urban sewage sludge and its disposal. In the present study, an experiment was conducted in greenhouse conditions to determine the effect of increasing levels of sewage sludge on the growth and nutrient content of spinach plant (*Spinacia oleracea* cv. Matador). In the experiment, sewage sludge was applied at the doses of AC0: 0, AC1: 10, AC2: 20, AC3:30, AC4: 40 and AC5: 50 g kg⁻¹ before sowing the seeds. As a result of the experiment, the fresh and dry weights of the plants and the concentrations of N, P, K, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn and Mn were determined. According to the research results, the sewage sludge application were determined by significantly affected fresh and dry weight of the spinach plant and the N, P, K, Ca, Fe, Cu, Mn and Zn concentrations, except Mg. Sewage sludge applications significantly decreased the fresh and dry weight of the plants compared to control and first dose. While the N, P and Ca concentrations of the plants were increased especially in 40 and 50 g kg⁻¹ AC applications, the K concentration decreased at 10 and 20 g kg⁻¹ doses. When the micro element concentrations of the plants were investigated, while Fe and Cu concentrations decreased with 20 and 30 g kg⁻¹ AC applications, Zn and Mn concentrations increased with 40 and 50 g kg⁻¹ AC applications.

Keywords

Plant nutrient
Spinach
Urban sewage sludge
Yield



Corresponding Author

figeneraslan@isparta.edu.tr

Giriş

Kentsel arıtma çamuru, endüstriyel veya kentsel atık su arıtma tesislerinin yarı katı yapıda bir yan üründür. Tarım toprakları için hayati önem taşıyan organik madde (OM) kaynağı olarak hareket eder; ayrıca bitki büyümesi ve gelişimi için önemli olan makro ve mikro besin elementlerini sağlar (Latare vd., 2018; Karkush ve Aljorany, 2019). Kentsel arıtma çamurunun uygun maliyetle ve çevreye duyarlı bir şekilde sürdürülebilir bir yolla yönetilmesi ve imha edilmesi, gelişmiş ülkelerin acil bir sorunudur. Atık çamurların tarımda kullanımı çevre dostu bir yönetim tekniği olarak kabul edilmiştir (Bai vd., 2017; Beidokhti vd., 2019).

Arıtma çamurlarının tarımsal amaçla kullanımı yalnızca uygun fiyatlı bir imha yöntemi sunmakla kalmaz aynı zamanda toprağın verimliliğini ve fiziksel özelliklerini de iyileştirir, böylece üründe verim artışının yanında geri dönüşümü de sağlanarak tarımsal girdi maliyetini de azaltır. Avrupa Birliği'nde toplam üretilen arıtma çamurunun % 37'si (3.6×106 ton) tarım sektöründe kullanılmaktadır. Bu miktar Çin, ABD ve Mısır'da sırasıyla % 44, % 65 ve % 85'tir (European Commission, 2010).

Kentsel arıtma çamurları bitki besin maddelerinin yanı sıra önemli miktarda kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), krom (Cr), nikel (Ni), arsenik (As) gibi toksik metalleri de taşır (Rastetter ve Gerhardt, 2017). Bu tür ağır metaller bitkiler tarafından alınır ve biriktirilirse besin zincirine katılarak insan sağlığına risk oluşturabilir. Bu sorunun boyutu, arıtma çamurunun bileşimi, kullanım miktarı ve sıklığı, ağır metallerin fitotoksitesisi, toprak özellikleri, ağır metallerin kimyasal özellikleri, yönetim stratejisi ve yetiştirilen ürün türlerine bağlı olarak değişir (Latare vd., 2018; Buaisha vd., 2020; Fazelabdolabadi ve Golestan, 2020). Bu nedenle, arıtma çamurlarının imhası eğer düzgün yönetilmezse çevreyi kirleten ve insan sağlığını tehlikeye sokan kontaminasyona sebep olabilir (Eid vd., 2017). Bu ağır metallerin topraktan bitkiye taşınması ile ortaya çıkan biyomagnifikasyon sonucu ürün kalitesi ve tüketicilerin sağlığı üzerinde zararlı etkileri vardır.

Ağır metallerle kirlenmiş bitkilerin tüketimi, besin zincirinin kirlenmesinde birincil yoldur ve insan sağlığı açısından ciddi rahatsızlıklara yol açacaktır. Ağır metalle kirlenmiş topraklarda yetişen gıda ürünlerini yiyerek oluşan metal tüketimi, insan sağlığına yönelik riskleri değerlendirmek için genellikle tehlike bölümü (HQ) ve kanserojen risk (CR) terimleri kullanılmıştır (Karimi vd., 2020). HQ ve CR değerlerine göre izin verilen maksimum arıtma çamuru uygulama sınırını düzenlemek de mümkündür.

Dünyada ıspanak üretimi bakımından en fazla $30.651.759$ ton yıl^{-1} üretimiyle Çin ilk sırada yer almaktadır. Çin'i sırasıyla ABD 382.356 ton yıl^{-1} , Türkiye 230.071 ton yıl^{-1} , Japonya 208.411 ton yıl^{-1} , Endonezya 170.821 ton yıl^{-1} izlemektedir (FAO, 2022). Türkiye dünya ıspanak üretim sıralamasında 4. sırada yer almaktadır. Türkiye'de İzmir (30.028 da alanda 52.019 ton yıl^{-1}), Ankara (20.451 da alanda 50.525 ton yıl^{-1}), Adana (9.270 da alanda 11.231 ton yıl^{-1}), Manisa (11.973 da alanda 12.641 ton yıl^{-1}), Sakarya (7.135 da alanda 8.488 ton yıl^{-1}), Isparta'da (400 da alanda 514 ton yıl^{-1}) üretim yapılmaktadır (TÜİK, 2023).

İçerik bakımından yüksek vitamin ve minerale sahip olan ıspanak, kışın insan beslenmesinde en büyük paylardan birisine sahiptir (Goto vd., 1996). Diğer bir ifadeyle; 100 g ıspanak 99 mg kalsiyum (Ca), 79 mg magnezyum (Mg), 0.897 mg mangan (Mn), 49 mg fosfor (P), 2.71 mg demir (Fe), 79 mg sodyum (Na), 0.53 mg çinko (Zn), 558 mg potasyum (K), 91.4 g su, 23 kcal enerji, 2.9 g protein, 0.4 g yağ, 0.4 g şeker, 3.6 g karbonhidrat, 2.2 diyet lifi içermektedir (Welbaum, 2015).

Organik madde miktarının ülkemiz topraklarında az oranda bulunmasından dolayı; toprak kalitesini iyileştirmede ve birim alandan daha fazla verim alabilmek için toprağa organik madde ilavesi çok önemlidir (Yalçın vd., 2010). Artan kentsel nüfusla birlikte tarımsal üretimde gübre olarak kullanabileceğimiz ürünlerden birisi de kentsel arıtma çamurudur. Organik madde bakımından yüksek, kolayca bulunabilir ve uygulanması düşük bütçeli olması; bu atık maddelerin tarımsal üretimde kullanılma düşüncesini desteklemektedir (Uzun ve Bilgili, 2011). Son yıllarda artan kentleşme ile kontrolsüz bir biçimde artan kentsel atıkların patojen ve ağır metallerden arındırılarak tarımda kullanılması büyük önem arz etmektedir.

Avrupa ülkelerinde tarımsal üretimde kentsel arıtma çamuru %10-80 arasında kullanılmaktadır. Ancak, hastalık faktörleri ve toksik madde miktarları oldukça fazla bulunabilir. Tarımsal uygulama için, bu değerlerin yönetmeliğe göre yasal sınırların altında olması gerekir (Delibacak vd., 2007). Toprak Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğine göre tarımda kullanılacak arıtma çamurlarında bulunmasına müsaade edilen ağır metal içerikleri için belirli sınır değerler verilmiştir. Dünya'da ve ülkemizde tarımsal amaçlı kullanılacak arıtma çamurlarında izin verilen en yüksek ağır metal içerikleri Tablo 1' de verilmiştir (Arlı, 2006).

Arıtma çamurları, elde edildikleri endüstriyel kuruluşun özelliğine bağlı olarak bileşimlerinde; metal tuzları, fenoller, organik bileşikler, asitler, alkaliler, oksitleyiciler, boyalar, sülfatlar, hidrokarbonlar, yağlar, Fe, Cu, Al, Hg, Cd, As, Co, Pb, Cr gibi ağır metaller ile organik fosfor ve azot gibi bitki besin elementleri de içerebilmektedirler. Atık su arıtma tesislerinden elde edilen arıtma çamurlarının tarımsal amaçlarla

kullanılıp değerlendirilebilmesi için, bu çamurların öncelikle bitki besin elementi içerikleri, tuzluluk, pH ve ağır metal yükleri bakımından detaylı olarak incelenmelerinin yapılması şarttır.

Tablo 1. Dünya’da ve ülkemizde tarımsal amaçlı kullanılacak arıtma çamurlarında izin verilen en yüksek ağır metal içerikleri (Arlı, 2006).

Kirlenici	Üst Limit (mg kg ⁻¹) *						
	ABD	Kanada	AB	İsveç	Danimarka	Almanya	Türkiye
Arsenik	75	75	-	-	-	-	-
Kadmiyum	85	20	20-40	2	0.5	1.5	20
Krom**	3000	-	1000-1750	100	-	-	1200
Bakır**	4300	-	1000-1750	600	40	60	1200
Kurşun**	840	500	750-1200	100	40	100	1200
Cıva	57	5	16-25	2.5	-	-	25
Molibden	75	20	-	-	-	-	-
Nikel**	420	180	300-400	50	15	50	1200
Selenyum	100	14	-	-	-	-	-
Çinko**	7500	1850	2500-4000	100	100	200	3000
PCB 8.6	-	-	-	-	-	-	-

*Kuru ağırlık ** İşlenmiş arıtma çamurunun topraklarda kullanılması ile hasadın alınması arasında en az 3 ay süre varsa ilgili kuruluşların görünüşü alınarak Bakanlıkça cıva ve kadmiyum hariç olmak üzere bu değerler % 5'e kadar artırılabilir.

Kentsel arıtma çamurlarının, makro ve mikro besin elementleri içerikleri kimyasal gübrelerden daha düşüktür, ancak değerli bir gübre materyali olabileceği düşünülmektedir. Arıtma çamurlarının makro besin elementi içeriği yaklaşık olarak N (% 2-8), P (% 1.5-3), K (% 0.1-0.6) arasında değişmektedir (Lu vd., 2012).

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı'nın 03.08.2010 tarihi 27661 sayılı "Evsel ve Kentsel Arıtma Çamurlarının Toprakta Kullanılmasına Dair Yönetmelik" inde arıtma çamurunun toprakta kullanılıp biyolojik ve kimyasal zararlarını en aza indirmek için bazı sınırlamaları vardır. İçeriğinde yararlı bileşikler olduğu gibi (organik ve inorganik besin elementleri) zararlı bileşiklerde (toksik organik ve inorganik elementler ve bileşikler, hastalık yapıcı organizmalar ve parazit yumurtaları) bulunabilmektedir. Biyolojik ve kimyasal içerik bakımından arıtma, depolama ve bekleme gibi işlemlerden geçirilen arıtma çamurunun, niteliği düşük topraklarda verimliliği artırıcı bir gübre olarak uygulanabileceği belirtilmektedir (Katkat ve Aşık, 2010).

Arıtma çamurunun bitkisel üretimde kullanılması, bertaraf için uygun bir stratejidir; ancak toprak ve insan sağlığına etkisi bakımından olumsuz sonuçlar doğurabilir. Bu nedenle, toprak kirliliğini önlemek için izin verilen arıtma çamuru seviyesinin belirlenmesi önemlidir. Bu çalışmada, kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisinin gelişimi ve bitki besin elementleri içeriklerine etkisi artan dozlarda uygulanarak bir sera denemesi ile belirlenmiştir.

Materyal ve Metot

Deneme toprağı, Isparta ili Yenişarbademli ilçesi Gökönak Köyünde bir üretici bahçesinden 0-20 cm derinlikten alınarak deneme kurmaya ve analize hazır hale getirilmiştir. Denemede kullanılan toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıdaki gibidir: Toplam N, 1.86 g kg⁻¹, bitkiye yararlı P, Fe, Mn, Zn ve Cu sırasıyla 83 mg kg⁻¹, 25.6 mg kg⁻¹, 21.2 mg kg⁻¹, 5.8 mg kg⁻¹ ve 1.6 mg kg⁻¹'dir, değişebilir K, Ca ve Mg ise 341 mg kg⁻¹, 1778 mg kg⁻¹ ve 215 mg kg⁻¹'dir. Deneme toprağının pH, 6.8, EC, 0.011 dS m⁻¹, organik madde, 2.61 g kg⁻¹ ve kireç içeriği % 4.03' dür. Kum, kil, silt içeriği sırasıyla; % 25.77, % 33.09 ve % 41.14' dür.

Denemede kullanılan kentsel arıtma çamuru Afyonkarahisar Belediyesi atık su arıtma tesisinden taze olarak alınmış, açık alanda iki hafta süreyle kurutularak uygulamaya hazır hale getirilmiştir. Arıtma çamurunun analizi Afyonkarahisar Gıda Kontrol Laboratuvarı tarafından yapılmıştır.

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak, 2 kg toprak alan saksılarda ve üstü plastik örtü kaplı açık serada yürütülmüştür. Saksılara tohum ekiminden bir hafta önce arıtma çamuru 0, 10, 20, 30, 40 ve 50 g kg⁻¹ (AÇ0, AÇ1, AÇ2, AÇ3, AÇ4, AÇ5) olacak şekilde uygulanarak toprakla eşit şekilde karışması sağlanmıştır. Temel gübreleme olarak tüm saksılara ekimden önce 100 mg N kg⁻¹ olacak şekilde 18.18.18+ME gübresi uygulanmıştır. Daha sonra tüm saksılara 30 Nisan 2022 tarihinde 20 adet ispanak (*Spinacia oleracea* cv. Matador) tohumu ekilmiştir. Bitki çıkışlarından sonra seyreltme yapılarak her

saksıda 4 adet bitki bırakılmıştır. Bitkiler, 30.06.2022 tarihinde toprak yüzeyinden kesilmek suretiyle hasat edilmiştir. Hasat edilen bitkilerin yaş ağırlıkları belirlendikten sonra 65 °C’de 48 saat etüvde kurutulmuş, kuru ağırlıkları tespit edilmiş ve mineral element analizleri için öğütülmüştür. Bitkilerin toplam N kapsamı Kjeldahl yöntemiyle, mikrodalga yaş yakma yöntemiyle (HNO₃) yakılan bitki örneklerinde toplam P, vanadomolibdofosfoik sarı renk yöntemine göre; toplam K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn ve Zn ise K atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle belirlenmiştir. (Kacar ve İnal, 2008).

Yapılan uygulamaların sonuçlarının önemliliği “varyans analizi” ile MİNİTAB paket programı kullanılarak, uygulamalar arasındaki farklılıklar ise Tukey testi ile belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Denemede kullanılan kentsel arıtma çamurunun bazı kimyasal özellikleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Denemede kullanılan kentsel arıtma çamurunun bazı kimyasal özellikleri

Parametreler	Birim	İzin Verilen Sınır Değerler			Ölçülen Değer
		İnert	Tehlikesiz	Tehlikeli	
Arsenik (As)	mg kg ⁻¹	≤ 0.05	0.05-0.2	0.02-2.5	0.104
Baryum (Ba)	mg kg ⁻¹	≤ 2	2-10	10-30	0.970
Kadmiyum(Cd)	mg kg ⁻¹	≤ 0.004	0.004-0.1	0.1-0.5	0.009
T. Krom (Cr)	mg kg ⁻¹	≤ 0.05	0.05-1	1-7	0.008
Bakır (Cu)	mg kg ⁻¹	≤ 0.02	0.2-5	5-10	0.483
Cıva (Hg)	mg kg ⁻¹	≤ 0.001	0.001-0.02	0.02-0.2	0.001
Molibden (Mo)	mg kg ⁻¹	≤ 0.05	0.05-1	1-3	<0.01
Nikel (Ni)	mg kg ⁻¹	≤ 0.04	0.04-1	1-4	0.088
Kurşun (Pb)	mg kg ⁻¹	≤ 0.05	0.05-1	1-5	0.196
Antimon (Sb)	mg kg ⁻¹	≤ 0.006	0.006-0.07	0.07-0.5	0.020
Selenyum (Se)	mg kg ⁻¹	≤ 0.01	0.01-0.05	0.05-0.7	<0.01
Çinko (Zn)	mg kg ⁻¹	≤ 0.4	0.4-5	5-20	2.378
Klorür (Cl ⁻)	mg kg ⁻¹	≤ 80	80-1500	1500-2500	20
Florür (F ⁻)	mg kg ⁻¹	≤ 1	1-15	15-50	8.12
Sülfat	mg kg ⁻¹	≤ 100	100-2000	2000-5000	23.79
Çözünmüş Organik	mg kg ⁻¹	≤ 50	50-80	80-100	508
Top.Çöz.Madde	mg kg ⁻¹	≤ 400	400-6000	6000-10000	494
Fenol İndeksi	mg kg ⁻¹	≤ 0.1	-	-	8.25
pH	-	-	-	-	7.49
EC	dS m ⁻¹	-	-	-	1.640
*Toplam Organik Karbon	%	≤ 30000 (%3)	50000 (%5)	60000 (% 6)	<1.57

Tablo incelendiğinde, ağır metal içeriklerinin kabul edilebilir yani inert (kimyasal olarak aktif olmayan) ve tehlikesiz aralıklarda olduğu, çözünmüş organik karbonun ise 508 mg kg⁻¹ değeri ile tehlikeli aralıklarda olduğu tespit edilmiştir.

Kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisinin gelişimi üzerine etkisi

Kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisine artan dozlarda uygulanmasının bitkilerin yaş (p<0.01) ve kuru (p<0.05) ağırlığına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kentsel arıtma çamuru AÇ1 ve AÇ2 dozu ile hem yaş (24.6 ve 19.90 g bitki⁻¹) hem kuru (3.12 ve 2.47 g bitki⁻¹) ağırlığı kontrol grubuna göre artırmıştır (Tablo 3). Arıtma çamurunun son iki dozu birinci doza (AÇ1) göre yaş ve kuru ağırlığı önemli oranda düşürmüştür.

Araştırma sonuçlarına göre; uygulanan arıtma çamurunun AÇ1 ve AÇ2 dozlarından sonra bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarının düştüğü belirlenmiştir. Bunun sebebini; artan dozlarla beraber kentsel arıtma çamurunun ağır metal içeriği ve aşırı tuzluluktan dolayı bitkilere zararlı etki yapması olarak düşünebiliriz. Jacobs ve McCreary (2001)’a göre; arıtma çamurunun içeriğindeki tuz konsantrasyonları bitkinin kök bölgesinde biriktiği için bitkinin çimlenmesinde ve büyümesinde yüksek tuz içeriğinin zararlara sebep olabileceği belirtilmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda da arıtma çamurunun ispanak bitkisinin verimini

artırdığı bulunmuştur. Eid vd. (2017); 0, 10, 20, 30, 40 ve 50 g kg⁻¹ dozlarında arıtma çamuru uyguladıkları ispanak bitkisinin biyokütlesinin 40 g kg⁻¹ doza kadar arttığını bildirmişlerdir. Swain vd. (2021), 20 t ha⁻¹ arıtma çamuru uygulamasının ispanak bitkisinin verimi üzerine en etkili doz olduğunu belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar Swain vd. (2020) tarafından da bildirilmiştir.

Tablo 3. Kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisinin yaş ve kuru ağırlığı üzerine etkisi

Uygulamalar	Yaş ağırlık (g bitki ⁻¹)	Kuru ağırlık (g bitki ⁻¹)
AÇ ₀	19.29 ab	2.39 ab
AÇ ₁	24.60 a	3.12 a
AÇ ₂	19.90 ab	2.47 ab
AÇ ₃	17.70 ab	2.32 ab
AÇ ₄	13.61 b	1.72 b
AÇ ₅	13.20 b	1.84 b
F test	4.92**	4.19*

*: p<0.05, **: p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli.

Kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisinin besin elementi konsantrasyonları üzerine etkisi

Jones vd. (1991)' e göre, genç (30-50 günlük) ispanak yaprağının bitki besin maddesi konsantrasyonlarının kritik düzeyleri Tablo 4' de verilmiştir.

Tablo 4. Genç (30-50 günlük) ispanak yaprağının bitki besin maddelerinin kritik düzeyleri (Jones vd., 1991)

Element	Noksan	Yeterli	Fazla
N (%)	3.50-3.99	4.00-6.00	>6.00
P (%)	0.25-0.29	0.30-0.60	>0.70
K (%)	4.00-4.99	5.00-8.00	>8.00
Ca (%)	0.50-0.69	0.70-1.20	>1.20
Mg (%)	0.40-0.59	0.60-1.00	>1.00
Cu (mg kg ⁻¹)	3-4	5-25	>25
Fe (mg kg ⁻¹)	50-59	60-200	>200
Mn (mg kg ⁻¹)	20-29	30-250	>250
Zn (mg kg ⁻¹)	20-24	25-100	>100

Kentsel arıtma çamuru uygulaması ispanak bitkisinin N, P, K ve Ca konsantrasyonları üzerine istatistiksel olarak önemli etki yaparken (p<0.01), Mg konsantrasyonu üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur (Tablo 5).

Kentsel arıtma çamuru uygulamaları ispanak bitkisinin N konsantrasyonunu AÇ₂, AÇ₄ ve AÇ₅ dozlarda kontrole (%3.82) göre önemli oranda artarak sırasıyla %4.35, %4.39 ve %4.43 olarak tespit edilmiştir. Çakır (2018), Ekleme (2018) ve Başkan (2018) tarafından yapılan araştırmalarda da kentsel arıtma çamuru uygulamasıyla bitkilerin N içeriğinin arttığı belirtilmiştir.

İspanak bitkisinin P konsantrasyonu arıtma çamurunun en yüksek dozunda diğer tüm uygulamalara göre önemli oranda artmıştır. Kontrol uygulamasında bitkinin P konsantrasyonu %0.47 ile yeterli seviyesinde yer almış, son doz olan AÇ₅ dozunda önemli oranda artarak %0.69 olarak tespit edilmiştir. Araştırmamızda, AÇ₅ dozuyla bitki P konsantrasyonunun diğer dozlara göre yüksek belirlenmesini, artan dozlarla birlikte ortamdaki organik madde ve P elementinin artışı ayrıca, AÇ₅ dozunda bitkinin yaş ve kuru ağırlığının düşmesiyle kentsel arıtma çamuru uygulamasının bitkide konsantrasyon (birikme) etkisi yaptığını söyleyebiliriz. Akat (2017) tarafından, gül bitkisi ile yapılan çalışmada uygulanan arıtma çamurunun bitkinin kök ve gövdesinde P elementinin miktarında artışlara sebep olduğu bildirilmiştir.

Kentsel arıtma çamuru uygulaması ispanak bitkisinin K içeriğini AÇ₁ ve AÇ₂ dozlarında kontrol ve diğer uygulamalara göre önemli oranda düşürmüştür. Araştırmamızda kontrol uygulamasında K konsantrasyonu %6.05 ile yeterli seviyesinde yer almış, kentsel arıtma çamuru uyguladığımız ispanak bitkisinin K konsantrasyonları ise %5.30-7.47 aralığında belirlenmiştir. Ekleme (2018) tarafından yapılan çalışmada, çim bitkisine artan dozlarda uygulanan arıtma çamuruyla K içeriğinin kontrole göre arttığı ve istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiştir.

Tablo 5. Kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisinin N, P, K, Mg ve Ca (%) konsantrasyonları üzerine etkisi

Uygulamalar	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	Ca (%)
AÇ ₀	3.82 b	0.47 b	6.05 a	1.80	0.42 d
AÇ ₁	4.09 ab	0.42 b	5.30 b	1.34	0.77 c
AÇ ₂	4.35 a	0.37 b	5.28 b	1.33	0.71 cd
AÇ ₃	4.07 ab	0.34 b	6.59 ab	1.24	0.81 bc
AÇ ₄	4.39 a	0.38 b	7.47 a	1.25	1.32 a
AÇ ₅	4.43 a	0.69 a	7.42 a	1.19	1.08 ab
F test	4.24**	11.23**	7.59**	1.50 ^{ö.d.}	20.91**

** : p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli. öd: önemli değil.

Kentsel arıtma çamurunun, bitkinin Mg konsantrasyonuna etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. İspanak bitkisinin Mg içerikleri %1.19 ile %1.80 arasında değişmiştir. Jones vd. (1991) göre, ispanak bitkisinin yaprağında Mg konsantrasyonlarının % 0.40-0.59 arasında noksan, % 0.60-1.00 arasında ise yeterli seviyede olduğunu belirtmiştir. İspanak bitkisinin Ca konsantrasyonu incelendiğinde, kontrol uygulamasında Ca konsantrasyonu % 0.42 ile noksan seviyesinde yer almış, ancak ilk uygulamayla beraber yeterli düzeye gelen Ca miktarı % 0.77-1.32 arasında uygulanan dozun artmasıyla artış göstermiştir. Çakır (2018), mısır bitkisine artan dozlarda uygulanan arıtma çamuru dozlarıyla, bitkinin kök ve kök üstü aksamalarının Ca konsantrasyonunda önemli artışlar tespit etmişlerdir. Zafar vd. (2020), %75 arıtma çamuru + %25 NPK uygulamasının hem lahana hem de ispanakta tüm makro besin maddelerinin (N, P, K, Ca ve Mg) konsantrasyonunu kontrole göre önemli oranda arttığını bildirmişlerdir. Swain vd. (2020), 20 t atık çamur ha-1 uygulamasının ispanak bitkisinde, P ve Mg hariç, yapraklardaki makro ve mikro besin maddelerinin alımını temel gübreleme yapılmış uygulamaya göre önemli ölçüde artırdığını, ispanak bitkisinin besin maddeleri alımının en düşük değerlerinin kontrol grubunda olurken, N, P, K ve Zn için besin maddesi kullanım etkinliğinin sırasıyla %5.33 ile %50.0, %6.06 ile %14.7, %5.51 ile %37.4 ve %2.26 ile %5.64 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

İspanak bitkisine artan dozlarda kentsel arıtma çamuru uygulaması bitkilerin Fe, Cu, Zn ve Mn konsantrasyonları üzerine önemli etkiler yapmıştır (Tablo 6). Jones vd. (1991), ispanak bitkisinin yaprağında Fe konsantrasyonunu 50-59 mg kg⁻¹ arasında noksan, 60-200 mg kg⁻¹ arasında ise yeterli seviyede olduğunu belirtmiştir. İspanak bitkisinin Fe içeriği kontrol ve AÇ5 dozunda 266 ve 275 mg kg⁻¹ olarak diğer uygulamalara göre en yüksek seviyede bulunmuştur. Demir (2010) tarafından bildirildiğine göre, kireçli bir toprakta mısır bitkisinde yapılan arıtma çamuru uygulamasıyla birlikte toprağın ve bitki kök üstü kısmın Fe içeriğinde artışlar gözlenirken, bitkinin kök kısmında önemli azalmalar belirlenmiştir.

Tablo 6. Kentsel arıtma çamurunun ispanak bitkisinin Fe, Cu, Zn ve Mn (mg kg⁻¹) konsantrasyonları üzerine etkisi

Uygulamalar	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)
AÇ ₀	266 a	8.50 a	77.0 c	110 c
AÇ ₁	232 ab	6.18 bc	95.3 bc	118 c
AÇ ₂	147 bc	4.40 c	87.9 bc	114 c
AÇ ₃	122 c	4.60 c	92.9 bc	136 bc
AÇ ₄	149 bc	6.96 ab	131 ab	210 b
AÇ ₅	275 a	7.46 ab	183 a	559 a
F test	11.06**	11.24**	11.93**	82.35**

** : p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli.

Bitkinin Cu konsantrasyonu AÇ₁, AÇ₂ ve AÇ₃ dozlarında kontrol ve diğer dozlara göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Jones vd. (1991) tarafından ispanak bitkisinin yaprağında Cu içeriği 3-4 mg kg⁻¹ arasında noksan, 5-25 mg kg⁻¹ arasında yeterli olduğu belirtilmiştir. Ekleme (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, çim bitkisine arıtma çamuru uygulamalarıyla, bitkinin Cu konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir. Arıtma çamurunun son iki dozu bitki Zn içeriğini kontrol (77.0 mg kg⁻¹) ve diğer dozlara göre önemli oranda (131 ve 183 mg kg⁻¹) artırmıştır. Jones vd. (1991)'e göre, ispanak bitkisinin yaprağında Zn konsantrasyonu 20-24 mg kg⁻¹ arasında noksan, 25-100 mg kg⁻¹ aralığında yeterli olarak değerlendirilmiştir. Demir (2010), mısır bitkisine yapılan kentsel arıtma çamuru uygulamasıyla bitkinin Zn içeriğinin uygulanan dozlarla beraber istatistiksel olarak önemli oranda arttığını bildirmiştir.

Kentsel arıtma çamuru uygulamasının son iki dozu bitkinin Mn konsantrasyonunu kontrol (110 mg kg^{-1}) ve ilk iki doza (118 ve 114 mg kg^{-1}) göre son üç dozda (136 , 210 , 559 mg kg^{-1}) önemli oranda artmıştır. Jones vd. (1991)'e göre, ıspanak bitkisinin yaprağında Mn içeriği 20 - 29 mg kg^{-1} arasında noksan, 30 - 250 mg kg^{-1} arasında yeterli olarak değerlendirilmiştir. Yaptığımız çalışmaya benzer şekilde Demir (2010), mısır bitkisine yapılan kentsel arıtma çamuru uygulamasıyla bitkinin Mn içeriğinin uygulanan dozlarla beraber istatistiksel olarak önemli oranda arttığını bildirmiştir. Eid vd. (2017), 0 , 10 , 20 , 30 , 40 ve 50 g kg^{-1} dozlarında arıtma çamuru uygulamasının ıspanak bitkisinin kök ve sürgünündeki tüm ağır metal konsantrasyonlarında (kurşun hariç) bir artışa neden olduğunu ancak, tüm ağır metal konsantrasyonları (krom ve demir hariç) normal aralıkta olduğunu ve fitotoksik seviyelere ulaşmadığını bildirmişlerdir. Kumar vd. (2016), ıspanak bitkisinin Cd, Cr, Cu, Mn ve Zn içeriklerinin arıtma çamuru uygulamasıyla arttığını, farklı ağır metallerin kontaminasyon faktörü (CF) sıralamasının, toprak için $\text{Mn} > \text{Cd} > \text{Cr} > \text{Zn} > \text{Cu}$ ve ıspanak bitkisi için $\text{Cr} > \text{Cd} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu}$ şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Swain vd. (2021), 20 t ha^{-1} ve daha yüksek dozda kentsel arıtma çamuru ile yetiştirilen ıspanak bitkisinin Zn ve Cd konsantrasyonunun güvenli sınırını aştığını ve Pb ve Cd'nin translokasyon faktörünün (TF) > 1 olduğu bildirmişlerdir. Zafar vd. (2010), %75 arıtma çamuru + %25 NPK uygulamasının hem lahana hem de ıspanakta mikro besin maddelerinin (Mn, Cu, Zn ve Fe) ve ağır metallerin (Cd, Cr, Pb ve Ni) konsantrasyonunun önemli ölçüde en yüksek olduğunu, buna karşın bu elementlerin kontrol uygulamalarındaki değerlerinin en düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuç

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; kentsel arıtma çamurunun ıspanak bitkisinin gelişimi ve besin elementi konsantrasyonu üzerine etkisi değerlendirildiğinde AÇ1 ve AÇ2 dozlarının en uygun doz olduğu belirlenmiştir. Arıtma çamurlarının tarımsal olarak üretimde kullanılması ve topraklara uygulanmasında bu çalışmada elde edilen veriler de dikkate alındığında aşağıda belirtilen koşullar göz önünde bulundurulmalıdır.

Öncelikle toprağa uygulanacak arıtma çamurunun karakterizasyon çalışmasının yapılması gerekmektedir. Özellikle arıtma çamurları içermiş oldukları besin elementleri ve ağır metal içerikleri nedeni ile besin elementleri arasında antagonistik etkilerin görülebileceği değerlendirilmelidir. Arıtma çamurlarının tarımsal amaçlı kullanımı ile ilgili olarak yönetmeliklerin değerlendirilmesi ve yönetmelikte belirtilen sınır değerlerin aşılması gerekmektedir.

Arıtma çamurlarının topraklara uygulanmasında toprak özellikleri dikkate alınmalıdır. Uygulamalara bağlı olarak toprakta meydana gelen değişimler belirlenmelidir. Özellikle kimi kentsel kökenli arıtma çamurlarının toprak tuzluluğunda meydana getirdiği değişimler dikkate alınarak ilgili önerilere uyulmalıdır. Arıtma çamurlarının özellikle içermiş olduğu azot ve fosfor gibi besin elementlerinden dolayı yetiştirilecek bitkinin besin elementi ihtiyacı ve toprakta oluşacak mineralizasyon derecesi göz önünde bulundurulmalıdır. Kentsel arıtma çamuru ilave edilen topraklarda ağır metallerin konsantrasyonu, ağır metallerin seviyesini güvenli sınırdan tutmak için periyodik olarak izlenmelidir.

Teşekkür

Bu araştırma makalesi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalında Erhan Recep İNCE tarafından sunulan Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

Yazar Katkı Oranları

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynaklar

- Akat, H., Altunlu, H., Çetinkale Demirkan, G., Saraçoğlu, A., & Yokaş, İ. (2017). Kesme gül yetiştiriciliğinde arıtma çamuru uygulamalarının bitki gelişme, çiçeklenme ve kalite üzerine etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(3), 327-332.
- Arlı, S. (2006). Arıtma çamurlarındaki ağır metallerin bitkilerle giderimi. (Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Bai, Y., Zang, C., Gu, M., Gu, C., Shao, H., Guan, Y., Wang, X., Zhou, X., Shan, Y., & Feng, K. (2017). Sewage sludge as an initial fertility driver for rapid improvement of mudflat salt-soils. *Sci Total Environ*, 578, 47-55.
- Başkan, G. (2018). Tarımsal Açından Ham ve Kireçli Arıtma Çamurunun Etkinliğinin Tavuk ve Ahır Gübresi ile Karşılaştırılması. (Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü).
- Beidokhti, M.Z., Naeeni, S.T.O., & AbdiGhahroudi, M.S. (2019). Biosorption of nickel (II) from aqueous solutions onto pistachio hull waste as a low cost biosorbent. *Civ Eng J*, 5, 447-457.
- Buaisha M., Balku S., & Yaman, Ö. S. (2020). Heavy metal removal investigation in conventional activated sludge systems. *Civ Eng J*, 6, 470-477.
- Çakır, H.N. (2018). Kentsel arıtma çamuru uygulamalarının mısır bitkisi gelişimine etkileri. (Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Delibacak, S., Kayıkçıoğlu, H.H., Okur, İ.B., Yağmur, B., & Ongun, A.R. (2007). Kentsel arıtma çamuru uygulamasının yer fıstığı ve arpa fiğ karışımı üretiminde verim ve bazı toprak özellikleri üzerine etkileri. Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje.
- Demir, E. (2010). Arıtma çamuru ve humik asit uygulamalarının mısırın verim, besin elementi ve ağır metal içeriğine etkisi. (Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Eid, E. M., El-Bebany, A. F., Alrumman, S. A., Hesham, A. E. L., Taher, M. A., & Fawy, K. F. (2017). Effects of different sewage sludge applications on heavy metal accumulation, growth and yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *International Journal of Phytoremediation*, 19(4), 340-347.
- Ekleme, Y. (2018). Çanakkale evsel atıksu arıtma çamurunun çim bitkisinin bitki besin elementi ve ağır metal içeriği üzerine etkisi. (Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- European Commission (2010). Environmental, economic and social impacts of the use of sewage sludge on land. Consultation report on options and impacts. Belgium, Milieu Ltd.
- FAO (2022). Dünyada ıspanak üretiminin verileri. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Son erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- Fazelabdelabadi, B., & Golestan, M.H. (2020). Towards bayesian quantification of permeability in micro-scale porous structures—the database of micro networks. *HighTech Innov J*, 1, 148-160.
- Goto, T., Miyazaki, M., & Oku, M. (1996). An improved procedure for protoplast culture and plant regeneration of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science*, 65(2), 349-354.
- Jacobs, L.W., & McCreary, D.S. (2001). Utilizing biosolids on agricultural land. Extension Bulletin, University of Michigan, USA.
- Jones Jr., J.B., Wolf, B., & Mills, H.A. (1991). Plant analysis handbook. *Micro-Macro Publishing*, Inc. Georgia 30607, USA.
- Kacar, B. & İnal, A. (2008). Bitki Analizleri. *Nobel Yayın*, 1241, 842s.
- Karimi, A., Naghizadeh, A., Biglari, H., Peirovi, R., Ghasemi, A., & Zarei, A. (2020). Assessment of human health risks and pollution index for heavy metals in farmlands irrigated by effluents of stabilization ponds. *Environ Sci Pollut Res* 1, 11.
- Karkush, M., & Aljorany A.N. (2019). Numerical evaluation of foundation of digester tank of sewage treatment plant. *Civ Eng J*, 5, 996-1006.
- Katkat, A.V., & Aşık, B.B. (2010). Arıtma çamurlarının tarımsal amaçlı kullanımı ve gübre değeri. 5. *Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi*. 15-17 Eylül, İzmir, 580-585.
- Kumar, V., Chopra, A. K., Srivastava, S., (2016). Assessment of heavy metals in spinach (*Spinacia oleracea* L) grown in sewage sludge-amended soil. *Communications in Soil Science And Plant Analysis*. 47(2), 221-236.
- Latore A.M., Singh S.K., & Kumar O. (2018). Impact of sewage sludge application on soil fertility, microbial population and enzyme activities in soil under rice-wheat system. *J Indian Soc Soil Sci*, 66, 300-309.
- Lu, Q., He, Z.L., & Stoffella, P.J. (2012). Land application of biosolids in the USA: A review. *Applied and Environmental Soil Science*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2012/201462>
- Rastetter, N., & Gerhardt, A. (2017). Toxic potential of different types of sewage sludge as fertiliser in agriculture: ecotoxicological effects on aquatic, sediment and soil indicator species. *J Soils Sediments* 17, 106-121.
- Swain, A., Satish, K., Singh, S., K., Mohapatra, K.K., & Patra, A. (2020) Effect of sewage sludge application on yield, nutrients uptake and nutrient use efficiency of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Annals of Plant and Soil Research*, 22(3), 305-309

- Swain, A., Satish, K., Singh, S., K., Mohapatra, K. K., & Patra, A. (2021) Sewage sludge amendment affects spinach yield, heavy metal bioaccumulation, and soil pollution indexes. *Arabian Journal of Geosciences*, 14, 717
- TÜİK (2023). Türkiye’de illere göre ıspanak üretimi verileri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/images/medas-tuik.png> (Son erişim tarihi: 17 Aralık 2024)
- Uzun, P., & Bilgili, U. (2011) Arıtma çamurlarının tarımda kullanıma olanakları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 135-146.
- Welbaum, G.E. (2015). Vegetable production and practices. *Printed and Bound by CPI Group (UK) Ltd.*
- Yalçın, G., Yavuz, R., Yılmaz, M., Taşpınar, K., & Ateş, Ö. (2010). Evaluation of sewage sludge on agricultural lands. *Journal of Engineering and Natural Sciences*. Eskişehir Toprak ve Su Kaynakları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Eskişehir, 156-164.
- Zafar, S., Farooq, S., Qazi, H. A., Jaweed, T. H., Kadam, A. K., & Lone, F. A. (2020). Evaluation of nutrient status of kale and spinach as affected by sewage sludge and mineral fertilizers. *Journal Of Plant Nutrition*. 43(17), 2633–2644.

Response of Rose (*Rosa damascena* Mill.) Oil Components to Different Irrigation Water and Nitrogen Applications

Yusuf UÇAR¹  Soner KAZAZ²  Figen ERASLAN İNAL³  Hasan BAYDAR⁴  Sabri ERBAŞ⁴ 

¹ Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Structures and Irrigation Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

² Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture ANKARA-TÜRKİYE

³ Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Soil Sciences and Nutrition Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

⁴ Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops Çünür-İSPARTA-TÜRKİYE

Abstract

In this study, the effects of different irrigation water amounts and nitrogen doses on the components of rose oil obtained from rose flowers harvested in different periods were investigated in oil rose (*Rosa damascena* Mill.). The experiment was set up in Süleyman Demirel University Agricultural Research and Application Center and carried out according to the randomized block factorial experimental design with 3 replications. The experiment trials were created as 4 irrigation water amounts created depending on Class A pan (T_0 : 0.00, T_1 : 0.40, T_2 : 0.80, T_3 : 1.20) and 4 nitrogen levels (N_0 : 0 kg N da⁻¹, N_1 : 8 kg N da⁻¹, N_2 : 16 kg N da⁻¹, N_3 : 24 kg N da⁻¹, pure substance). Irrigation was carried out at 10-day intervals by drip irrigation method. According to the study results, differences were observed in the ratios of citronellol, geraniol and nerol which are the important components of rose oil according to the trial subjects. Citronellol ratios were 19.41-38.25 (1st year: 25.35-34.40; 2nd year: 19.41-30.10; 3rd year: 24.16-38.25) and geraniol ratio was 9.62-35.36 (1st year: 27.86-33.87; 2nd year: 28.12-35.36; 3rd year: 9.62-26.62). The C/G ratio was found to be 0.91, 1.00, 1.16, 1.61 and 1.40 in the 1st, 2nd, 3rd and 4th harvest periods, respectively.

Article Info

Received: 06.12.2024

Accepted: 26.12.2024

Keywords

Irrigation
Isparta
Nitrogen
Oil rose
Rose oil components

Farklı Sulama Suyu ve Azot Uygulamalarının Yağ Gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nün Uçucu Yağ Bileşenlerine Etkisi

Öz

Farklı sulama suyu ve azot dozlarının, beş farklı dönemde hasat edilen yağ gülünden (*Rosa damascena* Mill.) elde edilen gül yağı bileşenleri üzerine etkisi araştırılan bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, tesadüf blokları faktöriyel deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Deneme konuları, Sınıf A sınıfı buharlaşma kabına bağlı olarak oluşturulan 4 sulama suyu miktarı (T_0 : 0.00, T_1 : 0.40, T_2 : 0.80, T_3 : 1.20) ve 4 azot dozu (N_0 : 0 kg N da⁻¹, N_1 : 8 kg N da⁻¹, N_2 : 16 kg N da⁻¹, N_3 : 24 kg N da⁻¹, saf madde) olacak şekilde oluşturulmuştur. Sulamalar, damla sulama yöntemi ile 10 günlük aralıklarla uygulanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, gül yağının önemli bileşenleri olan sitronellol, geraniol ve nerol oranlarında deneme konularına göre farklılıklar görülmüştür. Sitronellol oranları 19.41-38.25 (1.yıl: 25.35-34.40; 2.yıl: 19.41-30.10; 3.yıl: 24.16-38.25), geraniol oranı ise 9.62-35.36 (1.yıl: 27.86-33.87; 2.yıl: 28.12-35.36; 3.yıl: 9.62-26.62) olarak bulunmuştur. C/G oranları 1., 2., 3. ve 4. hasat dönemlerinde sırasıyla 0.91, 1.00, 1.16, 1.61 ve 1.40 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler

Azot
Isparta
Gül yağı bileşenleri
Sulama
Yağ gülü



Corresponding Author
yusufucar@isparta.edu.tr

Introduction

Oil rose (*Rosa damascena* Mill.) is a scented rose species with the highest economic value for the perfume, cosmetics, pharmaceutical and food industries. Turkey is one of the most important oil rose production centers in the world, together with Bulgaria, with its 2500 hectare production area. In Turkey, where the first oil rose production started in 1888, Isparta (Baydar, 2006), Afyonkarahisar, Burdur and Denizli provinces, also known as the Lakes Region, are important production centers of oil rose. The most important products obtained from oil rose are rose oil, rose concrete, rose absolute and rose water.

Rose flower yield, content and quality of essential oil obtained from rose flower are affected by many parameters such as genotype, growing location, growing season, relative humidity, irrigation, fertilization, harvest time, fermentation period of leaves and distillation processes (Weiss, 1997). Baydar and Göktürk Baydar (2005) stated that the rose oil yield varies during the harvest period (May and June) and that the rose oil yield, which is 0.04% in May, is 0.03% in June. Kazaz (1997) stated that rose flower harvest should be done in the early morning hours to increase the essential oil yield.

Water deficit stress is one of the most important abiotic stresses and when combined with nitrogen deficiency in plant cultivation, its effect on yield and quality is higher. As in other plants, limited water and nitrogen applications in *Rosa Damascena* Mill. significantly affect rose flower yield, essential oil yield (Ucar et al., 2017) and some essential oil components (Ashourabadi et al., 2024). Water deficit reduces the growth and essential oil production of medicinal and aromatic plants in arid and semiarid regions (Farahani et al. 2021). Ashourabadi et al. (2024) reported that citronellol, and geraniol, which are important components of essential oil, increased due to water deficit stress and included 24.48 and 2.89%, respectively. On the other hand, Kiyamaz et al. (2022) reported that water stress increased essential oil quality as water stress increased with diminished applied water. Farahani et al. (2021) showed that water stress resulted in 52.4, 46.4, and 43.2% increase in the concentrations of geraniol, citronellol, and nerol.

In this study, the effects of different irrigation water and nitrogen doses on the essential oil components of *Rosa Damascena* Mill. were investigated.

Material and Method

Plant material, planting, and experimental design

The research was conducted in the rose garden of the Rose and Rose Products Research Center in the Agricultural Research and Application Center of Süleyman Demirel University (Figure 1). The experimental area is located between latitude 37.83° and longitude 30.53° and the average altitude is around 1020 m above sea level. Isparta Province, where the research was conducted, is in the Mediterranean Region of southwestern Turkey. According to the long-term climate data of the research area, the average temperature is 11.97 °C, the average relative humidity is 61.1%, the average wind speed is 1.97 m s⁻¹, the annual average sunshine duration is 7.4 hours, and the annual total precipitation is 505.7 mm (Anonymous, 2009).

The study was set up in a randomized complete block design with 3 replications in a factorial arrangement. The plots were composed of 1×10 m rose rows, and a 2 m gap (unirrigated and unfertilized) was left between the plots. In the experiment, 4 different water levels (as Class A evaporation cup coefficient; T₀: 0.0, T₁: 0.40, T₂: 0.80, T₃: 1.20) and 4 different nitrogen levels (N₀: 0 kg da⁻¹, N₁: 8 kg da⁻¹, N₂: 16 kg da⁻¹, N₃: 24 kg da⁻¹; as pure substance) were used. The specified nitrogen doses were calculated as pure substance and ammonium nitrate (33% N) was used as the nitrogen fertilizer source.

The field capacity of the soils in the study area is 429.03 mm/120 cm, the wilting point is 253.35 mm/120 cm, and the available water-holding capacity is 175.68 mm/120 cm. The bulk density in the 0-120 cm layer ranged from 1.30 g cm⁻³ to 1.42 g cm⁻³, and the soil texture is classified as clay-loam. A 16 mm diameter in-line type lateral was used, and each plant row was irrigated with two lateral tubes. Based on the soil infiltration rate (15.5 mm h⁻¹), the emitter spacing was set at 0.50 m, and the emitter discharge was 4 l h⁻¹ under pressure above 1 atmosphere. Consequently, the wetted area ratio was determined to be 33%, following the methodology of Keller and Bliesner (1990). Irrigation began at the beginning of May and ended at the end of September. In the first and second years of the experiment, irrigation was performed 15 times, while in 2012, it was performed 6 times.

Determination of main components in rose oil

In this study, the essential oil properties of *Rosa damascena* Mill., which is produced intensively in Turkey (especially in the Isparta, Burdur and Afyonkarahisar regions) and is also known as Isparta rose or oil

rose, were investigated. Citronellol, geraniol, nerol, phenylethyl alcohol and linalool, which are the main active ingredients of rose oil and give rose oil its characteristic odor, were determined. The main components in rose oil were determined by GC/MS at Süleyman Demirel University, Experimental and Observational Research and Application Center according to Başer et al., (1990), Bayrak et al., (1994) and Baydar and Göktürk Baydar, (2005).



Figure 1. Experimental area.

Irrigation water

Class A Pan at the meteorological station located in the research area and used for agricultural purposes was used to determine the irrigation water applied to the experimental trials. Daily evaporation values measured from the Class A Pan were calculated cumulatively at 10-day intervals according to the rates specified in the trials using Equation 1 adapted from Ucar et al. (2017).

$$I = A \times T \times E_0 \times P \quad (1)$$

Where;

I: Irrigation water amount, liter, A: Plot area, m², T: Coefficient of Class A Pan, E₀: Cumulative evaporation amount in the irrigation interval, mm and P: Wetted area, %.

Harvest dates

Chemical component analyses of rose oils obtained from rose flowers harvested in 5 different periods in each of the three years of the experiment were carried out; in 2010; on 25 May (1st period), 29 May (2nd period), 05 June (3rd period), 11 June (4th period) and 17 June (5th period); in 2011; on 06 June (1st period), 13 June (2nd period), 17 June (3rd period), 21 June (4th period) and 26 June (5th period); in 2012; on 31 May (1st period), 05 June (2nd period), 11 June (3rd period), 15 June (4th period) and 20 June (5th period).

Results and Discussion

Although there are many components in the composition of rose oil, the most important ones are citronellol, geraniol, nerol, nonadecane, nonadecene, heneicosan, eicosan, tricosan, methyl eugenol, geranyl acetate and phenylethyl alcohol (Garnero, 1982; Baser, 1992; Bayrak and Akgul, 1994). However, among these components, the characteristic odor of rose oil is given especially by monoterpene alcohols (citronellol, geraniol and nerol), which are the main components of rose oil (Garnero, 1982; Baser, 1992; Bayrak and Akgul, 1994). Most of the international studies have focused on monoterpene alcohols such as citronellol, nerol and geraniol. Therefore, in our study, we focused on citronellol, geraniol and nerol. In addition, detailed information is given in the study about the citronellol/geraniol (C/G) ratio (Konur, 1990), which was first used in 1934 to simplify the comparison of oil components and to determine the quality of Bulgarian rose oil.

The components determined in rose oils obtained from rose flowers harvested according to the treatments in a total of 5 different harvest periods [(1st period; 25 May) (2nd period; 29 May) (3rd period; 05

June) (4th period; 11 June), (5th period; 17 June)] in the 2010 rose flower harvest season are presented in Appendix (Table 1 and Table 6). Among all harvest periods, the highest citronellol rate was obtained in T₀N₂ with 47.71% on June 11, the 4th harvest period, followed by T₁N₂ in the last harvest period with 46.17%. The lowest citronellol rate was obtained in T₁N₁ in the first harvest period (May 25) with 19.74%. When the 2010 rose oil samples were evaluated only according to the treatments without considering the harvest periods in terms of average citronellol rates, the highest average citronellol rate among the treatments was determined in T₃N₃ with 34.40%, followed by T₀N₂ and T₃N₂ subjects with 32.72% and 32.25%, respectively (Figure 2). When the average citronellol rates of the harvest periods were evaluated without considering the treatments, the highest average citronellol rate was found in the 4th harvest (June 11) (32.78%), and the lowest average citronellol rate was found in the first harvest period (May 25) with a rate of 26.62% (Figure 2). Among all harvest periods, the highest geraniol content was obtained with 43.53% in T₂N₂ during the first harvest period (May 25), and the lowest geraniol content was obtained with 15.47% in T₁N₁ during the last harvest period (June 17). When the average geraniol content was evaluated only according to the treatments without considering the harvest periods, the highest average geraniol content was determined in T₂N₂ (33.87%), T₂N₃ (33.77%) and T₀N₃ (33.37%), while the lowest average geraniol content was determined in T₃N₃ (27.86%) treatments (Figure 2). When the average geraniol content in rose oils was evaluated in terms of harvest periods, the highest average geraniol content was obtained in the first harvest period, May 25 (38.43%), while the lowest average geraniol content was obtained with 23.33% in the last harvest period (June 17). Among all treatments, the highest nerol rate was determined in T₀N₃ (%20.22), and the lowest nerol rate was determined in T₀N₀ (%4.94). When the average nerol rates were evaluated only according to the trial subjects without considering the harvest periods, the highest average nerol rates were determined in T₂N₃, T₁N₃ and T₃N₁ with 14.43%, 14.40% and 14.06%, respectively, while the lowest average nerol rate was determined in T₀N₂ with 11.48% (Figure 2). When only the harvest periods were evaluated in terms of average nerol rate without considering the trial subjects, the highest average nerol rate (%17.76) was obtained from the 1st harvest period on 25 May, while the lowest average nerol rate (%8.78) was obtained from the 4th harvest period on 11 June.

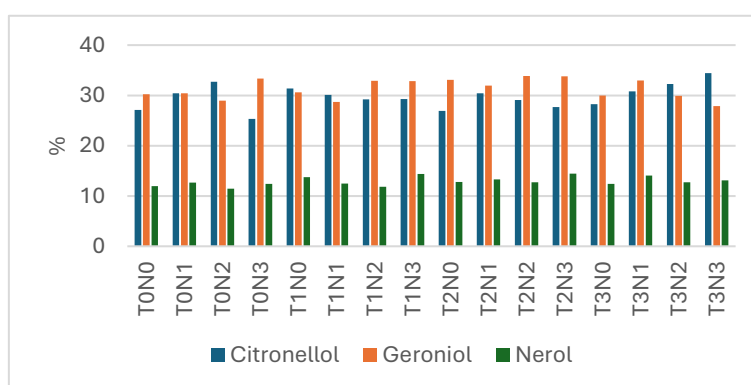


Figure 2. Citronellol, geraniol and nerol values in 2010.

When the rose oil samples obtained in 2011 were evaluated only according to the treatments (different nitrogen and irrigation levels) in terms of average citronellol content, the highest average citronellol content was determined in T₁N₀ with 30.10%, followed by T₁N₃ and T₀N₀ subjects with 29.99% and 29.78%, respectively. The lowest average citronellol content was obtained from T₁N₁ with 19.41% [Appendix (Table 2 and Table 5)]. When the harvest periods are taken into consideration, the highest average citronellol content was determined in the first harvest period, June 06 (31.11%), and the lowest average citronellol content was determined in the last harvest period, June 26 (21.97%) (Figure 3). When the average geraniol rates in rose oils were evaluated in terms of harvest periods, the highest average geraniol rate was obtained in the second harvest period, June 13 (37.94%), while the lowest average geraniol rate was obtained in the 4th harvest period (June 21) with 25.33%. When the average geraniol rates were evaluated according to the treatments without considering the harvest periods, the highest average geraniol rates were determined in

T₀N₁ (35.83%) and T₂N₁ (35.36%), while the lowest average geraniol rates were determined in T₀N₂ (29.49%), T₁N₀ (29.70%) and T₀N₀ (29.90%) treatments (Figure 3). When the average nerol rates were evaluated only according to the treatments without considering the harvest periods in the study, the highest average nerol rates were determined as 13.80%, 13.74% and 13.01% in T₃N₂, T₁N₃ and T₃N₁, respectively, while the lowest average nerol rates were determined as 10.65% and 10.68% in T₃N₃ and T₀N₃, respectively. When the average nerol rates were evaluated only considering the harvest periods, the highest average nerol rate (14.38%) was obtained from the 2nd harvest period on June 13, while the lowest average nerol rate (9.33%) was obtained from the 4th harvest period on June 21 (Figure 3).

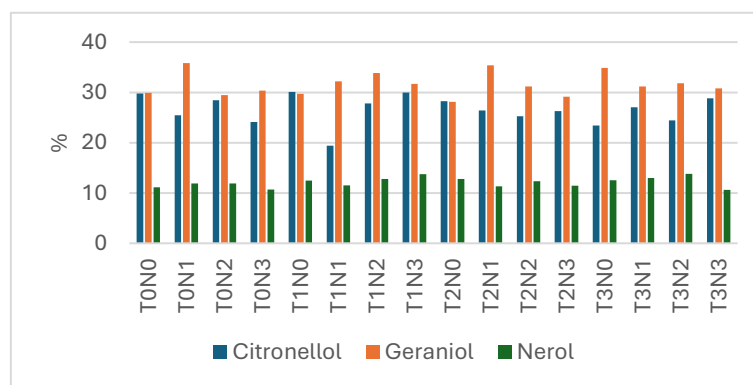


Figure 3. Citronellol, geraniol and nerol values in 2011.

Among all harvest periods in 2012, the highest citronellol rate was obtained in T₃N₂ with 58.59% on 20 June, the last harvest period, and this was followed by T₁N₃ and T₁N₁ subjects with 57.71% and 54.43%, respectively, in the same harvest period. The lowest citronellol rate was obtained in T₀N₁ subject with 11.00% on 05 June harvest. When the average citronellol rates were evaluated only according to the treatments, the highest average citronellol rate was determined in T₁N₁ with 38.25%, followed by T₃N₂ and T₁N₃ subjects with 37.08% and 36.34%, respectively (Figure 4). Among the harvest periods, the highest average citronellol rate was determined on 20 June (42.12%), the last harvest period, and the lowest average citronellol rate was determined in the second harvest period, 05 June (21.82%). Among all harvest periods, the highest geraniol content was obtained from T₂N₀ with 37.04% in the harvest period of June 15, and the lowest geraniol content was obtained from T₃N₀ with 2.14% in the harvest period of June 11. When the average geraniol content in rose oils was evaluated in terms of harvest periods, the highest average geraniol content was obtained in the first harvest period of May 31 (23.34%), followed by the harvest of the last harvest period of June 20 (19.83%). The lowest average geraniol content was obtained in the 3rd (June 11) and 4th (June 15) harvest periods with 13.38% and 13.88%, respectively. When the average geraniol rates were evaluated according to the treatments, the highest average geraniol rates were determined in T₂N₀ (26.62%) and T₃N₃ (25.87%), while the lowest average geraniol rates were determined in T₀N₂ (11.76%) and T₁N₁ (11.92%) experimental subjects (Figure 4). When the harvest periods and experimental subjects were evaluated together in terms of nerol rate, the highest nerol rate was determined with 15.89% in T₃N₃ during the last harvest (June 20) period, and the lowest nerol rate was determined with 0.39% in T₁N₁ during the 3rd harvest (June 11) period [Appendix (Table 6)]. When the treatments were evaluated in terms of average nerol rate, the highest average nerol rates among the treatments were determined with 10.26% and 8.88% in T₃N₃ and T₁N₀, respectively, while the lowest average nerol rate was determined with 3.62% in T₀N₂ (Figure 6). When the harvest periods were evaluated in terms of average nerol content, the highest average nerol content (8.81%) was obtained from the 3rd harvest period on June 15, while the lowest average nerol content (3.95%) was obtained from the 3rd harvest period on June 11.

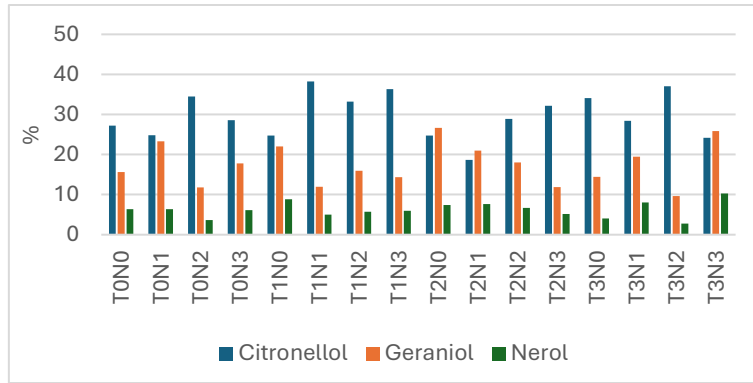


Figure 4. Citronellol, geraniol and nerol values in 2012.

Citronellol/Geraniol (C/G) ratio, which is an important criterion in determining the quality of rose oil, showed differences in rose oils obtained from rose flowers harvested from different periods and different treatments. In 2010, the highest average S/G ratio among the treatments was determined as 1.23 (T₁N₃), 1.01 (T₁N₀) and 3.85 (T₃N₂) in 2011 and 2012, respectively, while the lowest C/G ratios in the same years were determined as 0.76 (T₀N₃), 0.60 (T₁N₁) 0.93 (T₂N₀, T₃N₃), respectively. When the harvest periods are considered, the highest C/G as an average of 3 years was determined as 1.61 in the 4th period, while the lowest C/G was determined as 0.91 in the first harvest period (Figure 5).

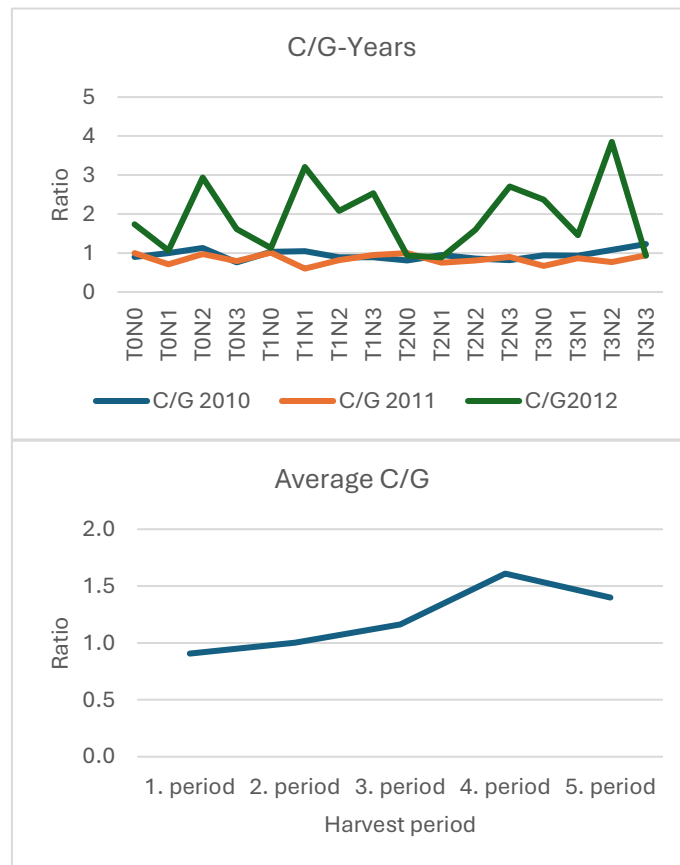


Figure 5. C/G ratios according to treatments and harvest periods.

It has been reported that the basic rose character of rose oil is determined by its citronellol content and that higher citronellol content increases sweetness and main odor when combined with equal amounts of geraniol, whereas when geraniol is low, the main odor and sweetness persist (Kürkçüoğlu, 1995). Also, nerol, one of the important components of volatile oils, not only increases the rose character but also gives a freshness character to rose oil, but when the geraniol content is low, the freshness character of nerol

appears as a very little citrus character, and when the geraniol content is high, the combination of citronellol, geraniol, farnesol and nerol gives it a strong, sweet, floral, fresh and rose character (Kürkçüoğlu, 1995). The citronellol, geraniol and nerol ratios in Turkish rose oils vary between 25-50%, 8-16% and 3-12% (Başer, 1992; Bayrak and Akgül, 1994), and in Bulgarian rose oils they vary between 22-55%, 14-18% and 5-10% (Garnero, 1982; Kürkçüoğlu, 1988). In our study, it was determined that citronellol ratios varied between 19.74-47.71%, geraniol ratios varied between 19.91-43.53% and nerol ratios varied between 4.94-20.22% among the harvest periods and treatments. It was determined that the values obtained for citronellol were generally in accordance with the lower and upper limit values of the previously reported values in Turkish rose oils, although the lower and upper limits showed differences. It was determined that the lower and upper limit values of geraniol ratios were considerably higher than both Turkish and Bulgarian rose oils. It was determined that nerol ratios were generally consistent with both Turkish and Bulgarian rose oils, but the upper limit values were higher. It is thought that the differences in the lower and upper limit values of both geraniol and nerol ratios may be due to cultural processes, ecological conditions and differences in the application in the study. It has been reported by various researchers that the differences in the essential oil components in rose oil are due to various factors such as plant species and variety, region, ecological conditions, cultural processes, harvest time and form, the time from harvesting to processing of rose flowers, differences in flower parts used in oil production, transportation, pretreatments, distillation techniques, packaging and storage (Guenther, 1952; Garnero et al., 1976; Anaç, 1984; Tucker and Maciarelo, 1988; Yılmaz and Mengüç, 1991; Başer, 1992; Bayrak et al., 1994). One of the important criteria in determining the quality of rose oil is the citronellol/geraniol (C/G) ratio (Başer, 1992). This ratio was first used in 1934 to determine the quality of Bulgarian rose oil to simplify the comparison of oil components (Konur, 1990). The desired odor quality in rose oil can be achieved when the C/G ratio is between 1.25-1.30 (Başer, 1992). Since the C/G ratio in oil obtained from fermented flowers exceeds these limits, the quality deteriorates. In this study, it was determined that the C/G ratio gradually increased towards the later harvest periods. The results obtained in the study in terms of harvest periods are consistent with the findings of Baydar and Göktürk Baydar (2001), who reported that the S/G ratio increased until the last harvest period in type 1 oils (light green oil obtained as a result of the first distillation; direct oil, fresh oil). In our study, the C/G ratio varied between 0.89-3.85 according to the treatments (water and nitrogen). Kürkçüoğlu (1995) reported that the C/G ratio of the 1st oil obtained from fresh rose flowers by hydro-distillation in the Clevenger apparatus was 1.36, while it was 3.17 in the 1st oil obtained from fermented flowers.

In the Figure 6, in order to understand the effect of irrigation and nitrogen individually, the citronellol, geraniol and nerol rates in the treatments to which nitrogen was not applied (T_0N_0 , T_1N_0 , T_2N_0 and T_3N_0) and in the treatments to which irrigation water was not applied (T_0N_0 , T_0N_1 , T_0N_2 , T_0N_3) are given. In the subjects to which nitrogen was not applied, although it generally varies according to the experimental years, the highest citronellol and geraniol rates were obtained in T_2 or T_3 subjects. When the nerol rate is evaluated in terms of irrigation, it is seen that the nerol values are similar in all irrigation applications except for 2012. More variable results were obtained in terms of nitrogen applications. In terms of nitrogen doses, although it varies according to the years, the highest values in terms of citronellol, geraniol and nerol were obtained from N_1 , N_2 and N_3 nitrogen applications. From here, it is possible to say that nitrogen and irrigation applications have a positive effect on the increase in citronellol, geraniol and nerol rates and that irrigation applications are more effective than nitrogen.

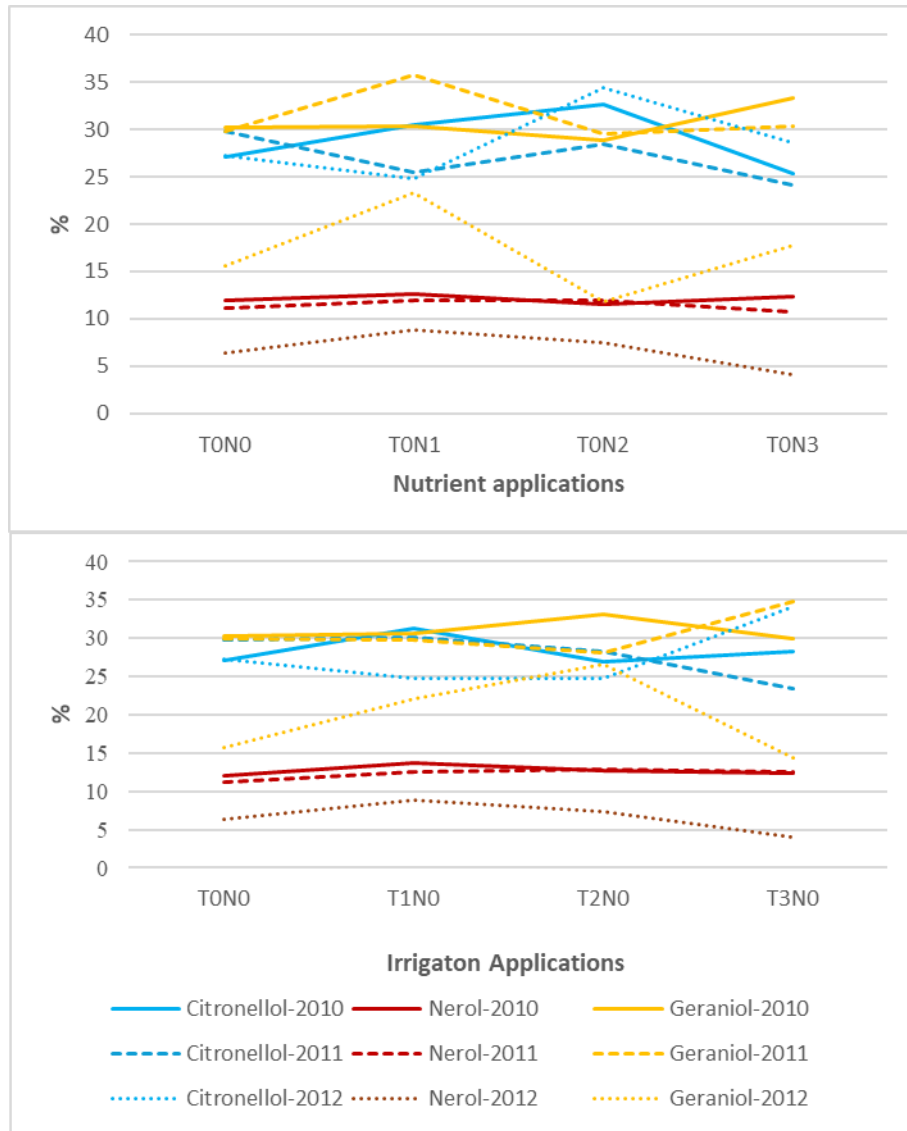


Figure 6. Citronellol, geraniol and nerol ratios in the treatments without water and nitrogen application.

Conclusion

In this study, which was carried out to determine the effects of different irrigation water and nitrogen amounts on citronellol, geraniol and nerol, which are the components of the essential oil obtained from *Rosa Damascena Mill.* The composition of essential rose oil obtained from *Rosa Damascena Mill.* grown under different irrigation water and nitrogen treatments was found to be highly compliant with oil standards. According to results, although these three important components vary depending on the treatments, nitrogen and irrigation applications generally increased the rates of citronellol and geraniol. When the experimental treatments applied only nitrogen or only irrigation water were evaluated separately, it was seen that the irrigation effect was higher than the nitrogen effect. When the C/G ratios, which are important quality parameters, were examined, the highest C/G ratio was determined in the harvest period in 4 periods.

Undoubtedly, *Rosa Damascena Mill.*, which is mostly grown in rainfed conditions, will be able to achieve essential oil quality by applying appropriate irrigation and nitrogen programs. For this, it will be possible to develop and implement the mentioned programs by considering the ecological conditions of the fields where *Rosa Damascena Mill.* is grown.

Acknowledgements

The authors would wish to express their gratitude to “The Scientific and Technological Research Council of Turkey” (TUBITAK) on of the funder, trough project number: TOVAG-109O369. This study was presented as an oral presentation at the “11th Edition of Life Sciences Today for Tomorrow” conference held in Iasi, Romania, on 24-25 October 2024. It has not been published as a full text.

Author Contributions

The authors equally contributed to the preparation of this paper.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Ethics Committee Approval

As the authors of this study, we confirm that we do not have any ethics committee approval.

References

- Anaç, O. (1984). Gas chromatographic analysis on Turkish Rose Oil, Absolute and Concrete. *Perfumer & Flavorist*, 9, 1-14.
- Anonymous, (2009). State Meteorology Service Isparta Regional Directorate Records, Isparta.
- Ashourabadi, S.E., Tabaei-Aghdaei, S.R., Mirza, M., Nadery, M., & Nadery, B. (2024). Effect of water deficit stress on yield and essential oil components of *Rosa damascena* Herrm. *Journal of Medicinal plants and By-Products*, 13(2), 285-291. <https://doi.org/10.22034/jmpb.2023.362285.1560>
- Başer, K.H., Kürkçüoğlu, M., Konur, O.Z. (1990). Türk Gül Yağının üretimi ve özellikleri. Anadolu Üniversitesi, Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi, *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni, Gül Özel Sayısı*, 4, 13-15.
- Baser, K.H.C. (1992). Turkish rose oil. *Perfumer & Flavorist*, 17, 45-52.
- Baydar, H., & Göktürk Baydar, N. (2001). Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)’nde verim ve kalite üzerine hasat dönemi, distilasyon için bekletme süresi ve distilasyon aşamalarının etkisi. IV. Tarla Bitkileri Kongresi, 17-21 Eylül 2001, Tekirdağ.
- Baydar, H., & Göktürk Baydar, N. (2005). The effects of harvest date, fermentation duration and tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascena* Mill.). *Industrial Crops and Products*, 21, 251-255.
- Baydar, H. (2006). Oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) cultivation and rose oil industry in Turkey. *Euro Cosmetics*, 14, 13-17.
- Bayrak, A., & Akgül, A. (1994). Volatile oil composition of Turkish Rose (*Rosa damascena*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64, 441-448.
- Bayrak, A., Akgül, A., Doğan, A., & Tekin, A. (1994). Çeşitli kaynaklardan sağlanan gül (*Rosa damascena* Mill.) yağlarının kimyasal bileşimi üzerine araştırmalar. *Standard Dergisi*, 389, 51-59.
- Farahani, H., Sajedi, N.A., Madani, H., Changizi, M., & Naeini, M.R. (2021). Physiological and biochemical responses of Damask rose (*Rosa damascena* Miller) to potassium silicate application under water deficit stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(3), 1560-1572. <https://doi.org/10.15835/nbha48311808>
- Garnero, J. (1982). La Rose et Son Parfum. *Parfums Cosmetiques Sav*, 47, 31-46.
- Garnero J., Guichard G., & Buil P. (1976). L’huile Essentielle et la concrete de Rose de Turquie. *Parfums, Cosmetiques, Aromes*, 8, 33-36.
- Guenther, E. (1952). The essentials oils. Vol 6. Reprinted 1976 by Robert E. Kreiger, Huntington, New York.
- Kazaz, S. (1997). Hasat zamanı ve hasat sonrası bekleme süresinin yağ gülünde (*Rosa damascena* Mill.) yağ miktarı ve kalitesine etkileri üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel University, Isparta.
- Keller, J., & Bliesner, R.D. (1990). Sprinkle and Trickle Irrigation. Van Nostrand Reinhold.
- Kiyamaz, S., Altun, B., & Ertek, A. (2022). Effect of different water regimes and nitrogen applications on the growth, yield, essential oil content, and quality parameters of the oil rose (*Rosa damascena* Mill.). *Journal of Plant Nutrition*, 45:14, 2108-2122. <https://doi.org/10.1080/01904167.2022.2063730>
- Konur, O.Z. (1990). Türk uçucu yağ endüstrisine genel bir bakış. *Anadolu Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Bülteni, Gül Özel Sayısı*. 4, Eskişehir.

- Kürkçüoğlu, M. (1988). Türk gül yağının üretimi ve özelliklerinin tespiti, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Kürkçüoğlu, M. (1995). Türk gülyağı, konktreti ve absölüsünün üretimi ve özellikleri. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Tucker, A.O., & Maciarelo, M. (1988). Nomenclature and chemistry of the Kazanlı Damask Rose and some potential alternatives from the horticultural trade of North America and Europe, in *Flavors and Fragrances: A World Perspective*, Lawrence, B.M., Mookherjee, B.D. and Willis, B.J. (eds) Elsevier Sci. Publ. BV, (pp. 99-114), Amsterdam.
- Ucar, Y., Kazaz, S., Eraslan, F., & Baydar, H. (2017). Effects of different irrigation water and nitrogen levels on the water use, rose flower yield and oil yield of *Rosa damascena*. *Agricultural Water Management*, 182, 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.12.004>
- Weiss, E.A. (1997). Rose: *In Essential Oil Crops*. CAB International, New York, USA. p. 394-416.
- Yılmaz, Ö., & Mengüç, A. (1991). Isparta ve yöresinde yetiştirilen güllerin (*Rosa damascena* Mill.) bazı özelliklerinin saptanması üzerine bir inceleme. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa.

APPENDIX

Table 1. Oil content (%) and composition in 2010

Chemical constituents	Treatments															
	T ₀ N ₀	T ₀ N ₁	T ₀ N ₂	T ₀ N ₃	T ₁ N ₀	T ₁ N ₁	T ₁ N ₂	T ₁ N ₃	T ₂ N ₀	T ₂ N ₁	T ₂ N ₂	T ₂ N ₃	T ₃ N ₀	T ₃ N ₁	T ₃ N ₂	T ₃ N ₃
Mirsen	-	-	0.03	0.08	-	-	-	-	-	0.09	-	-	-	-	0.04	-
Linalool	0.48	0.32	0.36	0.46	0.28	0.25	0.26	0.39	0.40	0.38	0.40	0.40	0.30	0.49	0.42	0.40
Aromadendrene	0.59	0.40	0.52	0.50	0.65	0.59	0.65	0.63	0.73	0.76	0.65	0.63	0.51	0.61	0.50	0.62
Citronellyl acetate	0.73	0.57	0.81	0.76	0.76	0.70	0.78	0.81	0.83	0.85	0.64	0.69	0.57	0.51	0.51	0.72
Caryophyllene/farnesene	0.71	0.69	0.53	0.68	0.76	0.65	0.60	0.33	0.30	0.53	0.71	0.43	0.69	0.73	0.56	0.65
Hexadecane	1.42	1.40	1.01	1.34	0.90	1.28	1.23	1.03	1.17	0.94	1.06	0.97	1.22	0.91	1.10	1.13
Germakren D	1.29	0.70	0.90	0.76	0.96	0.75	1.11	0.96	1.17	0.92	1.18	0.82	0.85	0.69	0.80	0.98
Farnesol	0.07	0.23	0.67	0.33	0.53	0.58	0.18	0.18	0.19	0.30	0.28	0.55	0.38	0.34	0.36	0.51
Neryl acetate	0.22	0.03	0.07	0.23	0.12	0.11	0.15	0.09	0.16	0.05	0.23	0.14	0.21	0.30	0.15	0.09
Citral	0.39	1.14	0.39	0.33	0.39	0.29	0.20	0.43	0.37	0.37	0.51	0.61	0.47	0.50	0.60	0.43
Geranyl acetate	5.06	3.77	3.54	4.94	3.67	4.05	3.89	4.39	4.17	3.67	4.02	5.07	4.76	3.52	4.14	3.57
Citronellol	27.0	30.4	32.7	25.35	31.35	30.11	29.21	29.27	26.94	30.45	29.08	27.66	28.25	30.78	32.25	34.40
Nerol	11.9	12.6	11.4	12.41	13.77	12.45	11.85	14.40	12.78	13.32	12.73	14.43	12.40	14.06	12.70	13.10
Geraniol	30.2	30.3	28.9	33.37	30.58	28.68	32.89	32.85	33.08	31.94	33.87	33.77	29.98	32.95	29.93	27.86
Nonadecane	8.68	8.07	7.61	8.35	6.26	9.64	7.15	5.99	7.13	6.09	5.92	5.56	8.71	5.21	6.62	6.54
9-nonadeken	2.17	1.82	1.91	1.96	1.60	1.97	1.69	1.02	1.67	1.34	1.43	1.30	1.80	1.18	1.58	1.63
Phenylethyl alcohol	1.20	1.16	1.08	1.07	1.11	1.02	0.96	1.06	1.02	1.17	0.97	1.10	1.22	1.16	1.03	1.02
Eikosan	0.50	1.63	0.62	0.61	0.78	0.56	0.45	0.38	0.43	0.51	0.44	0.44	0.62	0.34	0.50	0.47
Methyl eugenol	1.09	1.25	1.51	1.34	1.60	1.59	1.10	1.25	1.15	1.35	1.31	1.28	1.18	1.71	1.25	1.31
Heneikosan	3.83	2.57	3.01	3.34	2.33	3.21	2.99	2.54	3.23	2.57	2.33	1.95	3.47	2.26	2.63	2.66
Eugenol	1.12	0.79	1.06	1.10	0.89	0.77	1.09	1.06	1.15	1.06	1.10	1.00	1.03	3.04	1.18	0.99
Phenylethyl acetate	-	-	0.18	0.28	0.08	-	0.15	-	0.05	0.15	0.19	0.06	0.18	0.29	0.15	0.04

Table 2. Oil content (%) and composition in 2011

Chemical constituents	Treatments															
	T ₀ N ₀	T ₀ N ₁	T ₀ N ₂	T ₀ N ₃	T ₁ N ₀	T ₁ N ₁	T ₁ N ₂	T ₁ N ₃	T ₂ N ₀	T ₂ N ₁	T ₂ N ₂	T ₂ N ₃	T ₃ N ₀	T ₃ N ₁	T ₃ N ₂	T ₃ N ₃
Linalool	0.43	0.47	0.29	0.33	0.37	0.33	0.47	0.42	0.54	0.58	0.40	0.33	0.53	0.46	0.37	0.55
Citronellyl acetate	0.45	0.53	0.56	0.53	0.64	0.40	0.44	0.57	0.61	0.52	0.61	0.75	0.47	0.65	0.59	0.53
Hexadecane	1.45	1.31	1.44	1.52	1.27	1.85	1.28	1.12	1.40	1.41	1.54	1.40	1.36	1.29	1.26	1.49
Geranyl acetate	1.61	2.48	2.43	2.72	2.10	2.85	1.89	1.89	2.04	2.27	2.58	3.02	2.51	2.66	2.56	2.40
Citronellol	29.78	25.46	28.47	24.10	30.10	19.41	27.81	29.99	28.25	26.40	25.25	26.30	23.39	27.03	24.47	28.82
Nerol	11.15	11.92	11.88	10.68	12.50	11.49	12.80	13.74	12.79	11.35	12.37	11.44	12.52	13.01	13.80	10.65
Geraniol	29.90	35.83	29.49	30.33	29.70	32.20	33.83	31.73	28.12	35.36	31.20	29.14	34.87	31.17	31.81	30.82
Nonadecane	11.79	9.85	9.69	14.71	10.60	15.94	9.46	8.76	11.42	9.98	12.22	11.54	11.55	10.52	11.49	11.16
9-Nonadeken	2.55	2.19	4.38	3.11	2.24	3.35	2.05	1.97	2.42	2.13	2.89	2.94	2.27	2.16	2.43	2.32
Phenylethyl alcohol	0.78	0.82	0.90	0.79	0.91	0.82	1.00	0.99	1.05	0.82	0.88	0.97	0.91	1.02	0.90	0.90
Eikosan	0.86	0.70	0.85	1.01	0.76	1.10	0.63	0.61	1.03	0.66	0.88	0.96	0.83	0.73	0.85	0.74
Methyl eugenol	0.83	0.87	1.24	0.73	1.20	0.53	1.03	1.07	1.25	0.72	0.74	0.96	0.78	1.08	0.87	0.96
Heneikosan	4.19	3.47	4.16	5.39	3.80	5.36	3.05	2.99	4.33	3.22	4.36	4.93	4.05	3.50	4.46	3.51
Eugenol	0.95	1.04	1.00	0.85	0.91	1.12	1.04	0.91	1.12	1.01	0.90	0.97	1.04	1.07	0.93	1.23

Table 3. Oil content (%) and composition in 2012

Chemical constituents	Treatments															
	T ₀ N ₀	T ₀ N ₁	T ₀ N ₂	T ₀ N ₃	T ₁ N ₀	T ₁ N ₁	T ₁ N ₂	T ₁ N ₃	T ₂ N ₀	T ₂ N ₁	T ₂ N ₂	T ₂ N ₃	T ₃ N ₀	T ₃ N ₁	T ₃ N ₂	T ₃ N ₃
α-pinene	-	-	-	0.13	-	-	-	0.14	-	0.01	-	0.12	-	0.01	-	-
β-mirsen	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-	0.02	-	0.05	-	-	-	-
Linalool	0.23	0.32	0.24	0.30	0.42	0.22	0.29	0.30	0.30	0.31	0.30	0.29	0.27	0.24	0.26	0.25
α-quaien	0.29	0.27	0.46	0.29	0.34	0.34	0.36	0.34	0.39	0.17	0.29	0.35	0.41	0.29	0.28	0.26
Trans-caryophyllene	0.48	0.77	0.73	0.45	0.76	0.46	0.53	0.57	0.70	0.67	0.71	0.62	0.59	0.46	0.53	0.54
Terpinen-4-ol	0.05	0.15	0.05	0.01	0.16	-	-	0.07	0.17	0.09	0.04	0.06	0.01	0.05	-	0.12
Citronellyl acetate	0.39	0.30	0.66	0.57	0.52	0.38	0.62	0.75	0.44	0.30	0.51	0.56	0.55	0.56	0.68	0.46
α-humulene	0.07	0.36	0.33	0.14	0.20	0.20	0.25	0.31	0.20	0.23	0.33	0.28	0.23	0.26	0.33	0.21
Hexadecane	1.42	1.12	1.30	1.42	1.43	1.19	1.00	1.25	1.42	1.65	1.38	1.40	1.35	0.87	1.58	1.29
(Z)-Citral	0.08	-	-	-	0.15	-	0.01	0.02	-	0.04	-	0.07	-	0.06	-	0.19
Germakren D	1.15	1.21	1.28	1.14	1.35	0.99	1.17	1.21	1.35	1.00	1.39	1.05	1.44	0.98	1.15	1.23
(E)-Citral	0.23	0.21	0.16	0.12	0.35	0.10	0.12	0.28	0.23	0.24	0.15	0.21	0.06	0.16	0.06	0.46
Geranyl acetate	1.29	1.61	0.92	1.58	2.24	0.48	1.34	1.09	2.02	1.98	1.39	0.82	0.82	1.60	0.58	2.18
Citronellol	27.23	24.78	34.46	28.61	24.77	30.60	33.22	36.34	24.74	18.70	28.86	32.17	34.07	22.73	37.08	24.16
Nerol	6.37	6.38	3.62	6.14	8.88	3.99	5.76	5.93	7.42	7.64	6.68	5.18	4.04	6.45	2.80	10.26
Geraniol	15.66	23.34	11.76	17.77	22.00	9.53	15.94	14.35	26.62	20.97	18.06	11.85	14.40	15.57	9.62	25.87
Eicosane	19.57	16.04	17.61	16.74	15.79	13.60	16.95	15.29	15.01	20.60	16.40	18.05	18.43	11.81	19.19	14.17
9-Nonadekan	4.61	3.62	4.57	4.24	3.86	3.31	4.23	3.74	3.29	4.11	4.17	4.41	3.84	2.66	4.86	3.31
Phenylethyl alcohol	0.40	0.31	0.47	0.60	0.57	0.40	0.58	0.58	0.50	0.37	0.54	0.42	0.37	0.48	0.50	0.64
Eicosane	1.96	1.78	2.04	1.76	1.56	1.38	1.68	1.59	1.38	2.11	1.78	2.03	1.79	1.29	1.94	1.29
Methyl eugenol	1.43	0.96	1.83	1.35	1.21	1.31	1.42	1.91	1.16	0.85	1.70	1.68	1.92	1.20	2.30	1.17
Heneikosan	12.13	11.14	11.94	10.66	8.69	7.93	9.71	9.44	8.03	12.34	10.39	12.00	10.56	7.37	11.16	7.51
Eugenol	1.14	1.62	1.18	2.37	1.97	0.84	1.18	0.98	2.19	1.64	1.27	2.02	1.47	2.47	1.47	2.17
Trikosan	4.15	3.63	4.33	3.56	2.93	2.70	3.21	3.44	2.58	3.89	3.55	4.29	3.32	2.40	3.59	2.25

Table 4. Citronellol, geraniol and nerol ratios according to harvest periods in 2010

Treatments	May.25			May.29			June 5			June 11			June 17			Avg C	Avg G	Avg N
	C	G	N	C	G	N	C	G	N	C	G	N	C	G	N			
T ₀ N ₀	32.12	32.84	15.41	25.5	34.31	14.25	30.48	29.8	15.24	23.05	25.17	4.94	24.27	28.95	9.93	27.08	30.21	11.95
T ₀ N ₁	23.86	39.23	18.49	41.43	24.53	12.02	24.08	36.85	15.93	31.00	33.10	10.02	31.87	18.25	6.94	30.45	30.39	12.68
T ₀ N ₂	31.12	34.15	15.25	21.18	39.43	10.53	36.27	26.38	12.65	47.71	21.57	9.16	27.34	23.15	9.82	32.72	28.94	11.48
T ₀ N ₃	24.88	40.26	20.22	24.18	40.52	11.11	23.75	36.07	13.97	20.63	26.68	6.51	33.33	23.32	10.26	25.35	33.37	12.41
Average	28.00	36.62	17.34	28.07	34.70	11.98	28.65	32.28	14.45	30.60	26.63	7.66	29.20	23.42	9.24	28.90	30.73	12.13
T ₁ N ₀	28.64	38.16	19.43	36.75	29.96	15.2	28.58	31.13	15.83	26.68	35.95	10.68	36.1	17.71	7.72	31.35	30.58	13.77
T ₁ N ₁	19.74	39.11	15.83	30.11	33.79	14.41	26.78	35.11	17.66	43.91	19.91	8.61	30	15.47	5.76	30.11	28.68	12.45
T ₁ N ₂	22.9	41.16	16.87	22.28	38.02	11.09	25.68	33.95	15.97	29.03	34.06	8.12	46.17	17.26	7.18	29.21	32.89	11.85
T ₁ N ₃	24.5	41.00	19.68	34.38	27.93	13.08	30.16	32.83	15.64	34.92	27.98	11.39	22.41	34.49	12.22	29.27	32.85	14.40
Average	23.95	39.86	17.95	30.88	32.43	13.45	27.80	33.26	16.28	33.64	29.48	9.70	33.67	21.23	8.22	29.99	31.25	13.12
T ₂ N ₀	23.4	42.33	19.24	37.27	28.25	14.22	21.15	36.37	12.86	27.4	33.2	7.46	25.48	25.25	10.11	26.94	33.08	12.78
T ₂ N ₁	23.96	41.25	17.29	35.05	30.83	14.98	27.9	34.51	18.06	26.22	32.1	7.15	39.12	20.99	9.12	30.45	31.94	13.32
T ₂ N ₂	21.88	43.53	18.32	32.57	30.71	14.95	22.19	40.06	13.45	28.53	33.77	7.22	40.24	21.26	9.7	29.08	33.87	12.73
T ₂ N ₃	24.69	40.23	19.04	34.37	31.25	16.16	24.69	37.12	16.62	31.88	34.55	10.46	22.69	25.71	9.89	27.66	33.77	14.43
Average	23.48	41.84	18.47	34.82	30.26	15.08	23.98	37.02	15.25	28.51	33.41	8.07	31.88	23.30	9.71	28.53	33.16	13.32
T ₃ N ₀	26	38	17.28	30.87	29.27	13.2	32.28	29.39	14.17	27.69	31.77	9.67	24.41	21.48	7.7	28.25	29.98	12.40
T ₃ N ₁	27.2	37.11	16.47	23.86	42.39	13.87	30.82	31.36	17.45	36.53	29.25	12.08	35.48	24.62	10.41	30.78	32.95	14.06
T ₃ N ₂	35.18	33.36	16.65	31.13	30.51	14.11	23.08	34.88	12.44	46.4	20.54	8.08	25.47	30.37	12.24	32.25	29.93	12.70
T ₃ N ₃	35.81	33.17	17.04	27.97	32.31	14.83	30.26	28.74	14.03	42.95	20.17	8.94	35.03	24.92	10.66	34.40	27.86	13.10
Average	31.05	35.41	16.86	28.46	33.62	14.00	29.11	31.09	14.52	38.39	25.43	9.69	30.10	25.35	10.25	31.42	30.18	13.07

C: Citronellol, G: Geraniol, N: Nerol, Avg: Average

Table 5. Citronellol, geraniol and nerol ratios according to harvest periods in 2011

Treatments	June 6			June 13			June 17			June 21			June 26			Avg C	Avg G	Avg N
	C	G	N	C	G	N	C	G	N	C	G	N	C	G	N			
T ₀ N ₀	40.83	21.52	11.12	31.59	29.82	13.08	24.89	36.43	10.07	21.73	38.39	8.70	29.86	23.33	12.76	29.78	29.90	11.15
T ₀ N ₁	20.92	46.56	9.13	21.25	37.19	15.01	31.41	38.91	8.55	22.49	31.66	13.63	31.21	24.83	13.27	25.46	35.83	11.92
T ₀ N ₂	19.63	32.09	12.21	17.48	46.89	13.95	28.97	35.42	16.46	51.55	4.88	1.77	24.72	28.19	15.02	28.47	29.49	11.88
T ₀ N ₃	26.67	35.04	11.69	19.24	47.67	13.75	28.03	27.00	12.10	37.02	22.23	10.48	9.56	19.72	5.39	24.10	30.33	10.68
Average	27.01	33.80	11.04	22.39	40.39	13.95	28.33	34.44	11.80	33.20	24.29	8.65	23.84	24.02	11.61	26.95	31.39	11.41
T ₁ N ₀	40.06	21.40	9.08	17.62	43.17	11.92	30.09	33.43	16.28	36.66	20.38	9.06	26.09	30.14	16.16	30.10	29.70	12.50
T ₁ N ₁	22.96	37.12	13.52	18.76	38.75	16.73	24.11	34.95	15.13	20.52	39.49	8.33	10.71	10.71	3.75	19.41	32.20	11.49
T ₁ N ₂	23.03	46.46	9.60	21.98	41.15	14.47	27.84	33.82	14.79	40.05	16.97	7.26	26.16	30.77	17.87	27.81	33.83	12.80
T ₁ N ₃	39.13	19.49	8.25	31.98	35.44	16.05	24.90	37.63	12.37	23.53	34.87	15.83	30.43	31.20	16.19	29.99	31.73	13.74
Average	31.30	31.12	10.11	22.59	39.63	14.79	26.74	34.96	14.64	30.19	27.93	10.12	23.35	25.71	13.49	26.83	31.87	12.63
T ₂ N ₀	30.01	21.37	12.05	23.14	32.18	17.01	32.57	39.24	9.08	34.01	13.14	6.54	21.51	34.69	19.26	28.25	28.12	12.79
T ₂ N ₁	39.75	20.83	9.24	24.27	40.47	15.24	31.14	40.12	8.15	18.46	32.34	7.08	18.38	43.06	17.06	26.40	35.36	11.35
T ₂ N ₂	28.06	30.17	10.46	31.02	27.03	9.96	25.80	34.92	14.81	26.49	27.82	13.45	14.89	36.05	13.16	25.25	31.20	12.37
T ₂ N ₃	28.90	32.90	12.81	18.77	37.96	10.75	26.89	24.52	8.57	31.81	15.28	6.66	25.12	35.04	18.42	26.30	29.14	11.44
Average	31.68	26.32	11.14	24.30	34.41	13.24	29.10	34.70	10.15	27.69	22.15	8.43	19.98	37.21	16.98	26.55	30.96	11.99
T ₃ N ₀	22.83	42.39	10.13	24.10	34.96	15.67	28.93	36.21	8.15	19.46	31.22	13.40	21.65	29.59	15.25	23.39	34.87	12.52
T ₃ N ₁	27.77	34.90	13.13	18.20	39.69	13.06	26.08	34.69	14.46	42.19	14.37	6.19	20.90	32.18	18.20	27.03	31.17	13.01
T ₃ N ₂	25.78	34.00	12.60	23.19	36.13	16.89	25.14	37.50	15.78	25.89	29.58	13.23	22.34	21.85	10.51	24.47	31.81	13.80
T ₃ N ₃	61.42	8.65	2.77	21.86	38.48	16.61	22.72	33.62	11.01	20.04	32.64	7.62	18.04	40.69	15.25	28.82	30.82	10.65
Average	34.45	29.99	9.66	21.84	37.32	15.56	25.72	35.51	12.35	26.90	26.95	10.11	20.73	31.08	14.80	25.93	32.17	12.50

C: Citronellol, G: Geraniol, N: Nerol, Avg: Average

Table 6. Citronellol, geraniol and nerol ratios according to harvest periods in 2012

Treatments	May.31			June 5			June 11			June 15			June 20			Avg C	Avg G	Avg N
	C	G	N	C	G	N	C	G	N	C	G	N	C	G	N			
T ₀ N ₀	34.97	14.72	5.71	15.83	9.05	3.78	27.81	2.18	0.53	36.41	16.58	8.14	21.12	35.79	13.71	27.23	15.66	6.37
T ₀ N ₁	27.53	24.28	9.88	11.00	18.34	2.32	18.30	34.91	7.06	18.64	30.29	9.03	48.45	8.88	3.62	24.78	23.34	6.38
T ₀ N ₂	19.37	30.11	7.27	25.87	12.10	4.45	43.85	2.61	0.71	36.31	10.21	4.41	46.89	3.77	1.24	34.46	11.76	3.62
T ₀ N ₃	15.93	27.06	6.29	22.20	19.92	7.51	18.72	16.21	5.75	36.99	20.24	9.30	49.23	5.41	1.87	28.61	17.77	6.14
Average	24.45	24.04	7.29	18.73	14.85	4.52	27.17	13.98	3.51	32.09	19.33	7.72	41.42	13.46	5.11	28.77	17.13	5.63
T ₁ N ₀	21.41	22.51	8.37	17.14	16.29	5.92	24.69	21.04	8.87	40.95	15.85	8.37	19.64	34.32	12.85	24.77	22.00	8.88
T ₁ N ₁	26.05	21.47	8.62	18.92	16.08	6.91	-	-	-	53.59	5.79	2.83	54.43	4.33	1.59	38.25	11.92	4.99
T ₁ N ₂	17.91	27.99	7.03	25.42	7.69	3.07	24.41	20.82	9.05	49.63	11.15	4.61	48.72	12.06	5.02	33.22	15.94	5.76
T ₁ N ₃	23.58	30.64	11.47	28.13	5.41	1.73	34.97	5.58	2.01	37.31	25.84	13.08	57.71	4.26	1.35	36.34	14.35	5.93
Average	22.24	25.65	8.87	22.40	11.37	4.41	28.02	15.81	6.64	45.37	14.66	7.22	45.13	13.74	5.20	32.63	16.25	6.47
T ₂ N ₀	31.27	15.76	6.08	19.41	32.60	5.40	17.45	32.55	7.27	17.34	37.04	11.73	38.24	15.16	6.63	24.74	26.62	7.42
T ₂ N ₁	23.54	20.99	8.47	19.08	26.74	4.38	2.19	2.54	0.39	29.48	22.29	12.51	19.23	32.29	12.43	18.70	20.97	7.64
T ₂ N ₂	26.05	29.09	11.65	20.35	17.53	6.48	34.89	3.07	0.93	16.01	36.18	12.86	47.00	4.43	1.48	28.86	18.06	6.68
T ₂ N ₃	20.25	21.11	7.88	26.08	12.36	5.70	28.24	4.33	1.43	40.54	18.63	9.84	45.73	2.80	1.04	32.17	11.85	5.18
Average	25.28	21.74	8.52	21.23	22.31	5.49	20.69	10.62	2.51	25.84	28.54	11.74	37.55	13.67	5.40	26.12	19.37	6.73
T ₃ N ₀	26.39	15.96	5.58	19.63	32.97	4.95	33.20	2.14	0.53	47.40	11.10	5.00	43.75	9.82	4.14	34.07	14.40	4.04
T ₃ N ₁	-	-	-	28.67	11.25	4.46	18.87	17.65	7.33	17.89	35.99	14.99	48.24	12.96	5.49	28.42	19.46	8.07
T ₃ N ₂	14.58	21.32	4.19	28.84	13.82	5.32	36.53	4.92	1.71	46.84	4.60	1.85	58.59	3.45	0.95	37.08	9.62	2.80
T ₃ N ₃	22.00	27.13	10.26	22.55	15.65	7.11	13.72	27.20	5.70	35.62	23.16	12.36	26.93	36.20	15.89	24.16	25.87	10.26
Average	20.99	21.47	6.68	24.92	18.42	5.46	25.58	12.98	3.82	36.94	18.71	8.55	44.38	15.61	6.62	30.56	17.44	6.22

C: Citronellol, G: Geraniol, N: Nerol, Avg: Average