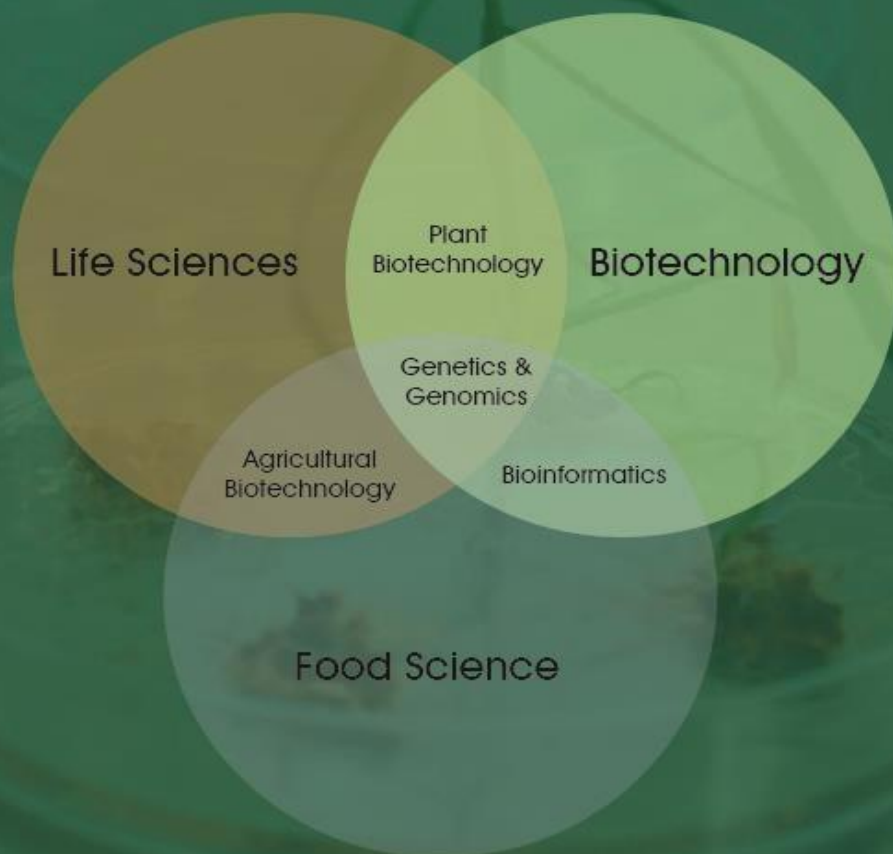


International Journal of Life Sciences and Biotechnology

e-ISSN:2651-4621



Baş Editör/ Editor in Chief**Dr. Öğrt Üyesi Yılmaz Kaya,**

Department of Agricultural Biotechnology Ondokuz

Mayıs University, Turkey

Editör Kurulu/ Editorial Boards

Fahrul Zaman Huyop, Department of Biosciences, Faculty of Science, Universiti Teknologi Malaysia, Malaysia,

İsmail Kocaçalışkan, Department of Molecular Biology and Genetics, Yıldız Technical University, Turkey

Ercan Bursal, Department of Nursing Science, Muş Alparslan University, Turkey

Nermin Gözükırmızı, Department of Molecular Biology and Genetics, Istinye University, Turkey

Azzmer A. Abdul Hamid, Department of Biotechnology, International Islamic University Malaysia, Malaysia

Muhammet Kurulay, Department of Mathematics Engineering, Yıldız Technical University, Turkey

Ertan Ermiş, Department of Food Engineering, Istanbul S. Zaim University, Turkey

Mohamed Faraj Edbeib, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Baniwalid University, Libya

Ali Yüksek, Department of Islamic Law, Ondokuz Mayıs University, Turkey

Hasan Murat Aksoy, Department of Plant Protection, Ondokuz Mayıs University, Turkey

Ayşe Feyza Tufan, Department of Molecular Biology and Genetics, Halic University, Turkey

Muhammed Yüceer, Department of Food Processing, Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey

Sevgi Marakli, Department of Medical Techniques and Services, Amasya University, Turkey

Sibel Yılmaz, Department of Molecular Biology and Genetics, Yeni Yüzyıl University, Turkey,

Şahin Özel, Department of Chemistry, Bursa Uludağ University, Turkey

Kasım Takım, Department of Fundamental Sciences, Harran University, Turkey

Muhammad Arshad Javed, Department Biosciences & Medical Engineering, University Technology Malaysia, Malaysia

Abdurrezzak Sener, Supply Chain Management Palumbo Donahue School of Business, Duquesne University

Faiz Tahseen Alkhamisi, College of Agriculture, University of Anbar, Iraq

Nedim Uzun, Taksim Education and Research Hospital, Turkey

Yönetim Ofisi/ Management Office

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya- Metalurji Fakültesi. ESENLER/İSTANBUL

Yasal Sorumluluk

Yazıların yasal ve hukuki sorumluluğu yazarlara aittir.
Tüm hakları saklıdır. Derginin hiçbir bölümü, yazılı ön izin olmaksızın ve dergi adına referans gösterilmeden herhangi bir formatta çoğaltılamaz veya kullanılamaz.

Legal Responsibility

The legal responsibility of the articles belongs to the authors. All rights reserved. No part of this journal may be reproduced or used in any form without the prior written permission and a reference to name of the journal.

Editörden;

Değerli okurlar ve yazarlar,

“International Journal of Life Sciences and Biotechnology” olarak dergimizin üçüncü sayısını yayın hayatına sunmaktan mutluluk ve onur duyuyoruz. “International Journal of Life Sciences and Biotechnology” dergisi araştırma- geliştirme ve uygulama ilkeleri baz alınarak yayınlanan uluslararası hakemli açık erişimli akademik bir elektronik dergidir.

Türkiye’de Yaşam Bilimleri, Biyoloji, Biyoteknoloji, Biyomühendislik, Ziraat Bilimleri, Gıda Biyoteknolojisi ve Genetik alanlarındaki ilgili araştırmacılara, kurum ve kuruluşlara teorik ve pratik uygulamalarda katkı sağlamayı, tarafsızlık ilkesi ve bilim etiği ilkelerine bağlı kalarak çözüm temelli, yenilikçi ve katma değeri olan çalışmalara odaklanan, günceli ve geleceği tartışan çalışmaların yayınlanmasını hedeflemektedir.

Bu düşüncelerle üçüncü sayısını yayınladığımız “International Journal of Life Sciences and Biotechnology” dergisini, makaleleri ile onurlandıran akademisyenlere, Fikir / Görüş / Katkı / Eleştirileri ile değerlendirme süreçlerine katkılarından dolayı hakem ve yayın kurullarında yer alan kıymetli bilim insanlarına yürekten teşekkür ediyoruz. Bir sonraki sayıda görüşmek ümidiyle...

28. 04. 2019

Editör

Dr. Öğrt. Üyesi Yılmaz KAYA

From The Editor;

Dear Readers and Authors,

As "International Journal of Life Sciences and Biotechnology", we are pleased and honored to present the third issue of the journal. "International Journal of Life Sciences and Biotechnology" is an international double peer-reviewed open access academic journal published on the basis of research- development and code of practice.

The aims of this journal are to contribute in theoretical and practical applications in relevant researchers of Life Sciences, Biology, Biotechnology, Bioengineering, Agricultural Sciences, Food Biotechnology and Genetics institutions and organizations in Turkey, and to publish solution based papers depending on the principle of impartiality and scientific ethics principles, focusing on innovative and added value work, discussing the current and future.

With these thoughts, We are especially thankful to academicians honoring with the articles, valuable scientists involved in editorial boards and reviewers for their contributions to the evaluation processes with through their opinions/ideas/contributions/criticisms in third issue of "International Journal of Life Sciences and Biotechnology". Hope to see you in the next issue...

28.04.2019

Editor in Chief

Assit. Prof. Dr. Yilmaz KAYA

Sayının Hakemleri / Reviewers of the Issue

Prof.Dr.FadulÖnemli,TekirdagNamikKemalUniversity

Prof. Dr. Lokman Öztürk, Tokat Gaziosmanpasa University

Prof. Dr. Özlem Barış, Ataturk University

Prof. Dr. Sadık Dinçer, Çukurova University

Prof. Dr. Yavuz Demir, Ataturk University

Prof. Dr. Yelda Özden Çiftçi, Gebze Technical University

Doç. Dr. Cengiz Karaca, Hatay Mustafa Kemal University

Doç. Dr. Reyhan Gül Güven, Dicle University

Doç.Dr.TulinArasoğlu,Yildiz Technical University

Dr. Öğrt. Üyesi Ayşe Feyza Tufan, Halic University

Dr. Öğrt. Üyesi Bilgin Taşkın, Van Yuzuncu Yıl University

Dr. Öğrt. Üyesi Hakan Polatçı, Tokat Gaziosmanpasa University

Dr. Öğtr. Üyesi Seviye Yaver, Tekirdag Namik Kemal University

Dr. Arş. Gör. Onur Taskin, Bursa Uludag University

Dr. Arş. Gör. Esmael Kelil Haji, Dilla University, Dilla, Ethiopia

Dr. Çiğdem Otur, Samsun Ondokuz Mayıs University

İçindekiler/ Contents

Bitki Probiyotik Bakteriler: Bitkiler Üzerindeki Roller ve Uygulamalar

Çiğdem Küçük 1-15

Yozgat İli Hayvansal Kaynaklı Atıkların Biyogaz ve Enerji Potansiyellerinin Belirlenmesi

Muhammed Tasova, Serkan Yazarel 16-24

Transposon Studies on *Colchium chalcedonicum*

Elif Karlık, Merve Albayrak, Erdal Uzen, Nermin Gozukirmizi..... 25-35

Anadolu Coğrafyasında Yayılış Gösteren Berberis Türleri ve Geleneksel Kullanımı

Sahane Funda Arslanoglu, Omer Faruk Ayna 36-42

Effect of Juglone on Seed Germination and Seedling Growth of Four Common Vegetables

İsmail Kocacaliskan, Tugce Akgul, Semiha Erisen 43-49

Bitki Probiyotik Bakteriler: Bitkiler Üzerindeki Roller ve Uygulamalar

Çiğdem Küçük¹

ÖZET

Artan nüfus dolayısıyla hayvansal ve bitkisel besin maddelerine karşı yüksek talep, toprak verimliliğinin korunması üzerine endişelerin artması sonucu kimyasal gübrelere alternatif arayışları başlatmıştır. Bitki probiyotik bakteriler, kimyasal gübrelere kullanımını azaltarak, çevre korunmasına odaklanmıştır. Bitki probiyotik bakteriler, gelişmeyi teşvik eden ve kök bölgesinde kolonize olan toprak bakterileridir. Bitkinin bitki probiyotik bakterilerin belirli suşları ile aşılması, bitkinin kök ve sürgünlerin gelişimi üzerine doğrudan etki etmektedir, biyokütle üretimini arttırmaktadır. Bu bakteriler ayrıca, ürün kalitesinin artmasına da yardımcı olmaktadır. Bu nedenle, bitki probiyotik bakteriler olarak adlandırılan bu mikroorganizmalar, biyogübre olarak kullanımları ile dünya nüfusunun sürdürülebilmesi için gıda ve yemin üretimine katkıda bulunacak çevre dostu olarak tanımlanmışlardır. Bu derlemede, bitki probiyotik bakteriler olarak rizobakterilerin bitki gelişimi üzerindeki mekanizmaları özetlenmiştir.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş 05 Aralık 2018

Kabul 30 Ocak 2019

ANAHTAR KELİMELER

Bitki probiyotik bakteriler, biyogübre, bitki gelişimini teşvik, aktif mekanizmaları

Plant Probiotic Bacteria: Their Role on Plants and Applications

ABSTRACT

Due to the increasing population, high demand against animal and vegetable nutrients has started to search for alternatives to chemical fertilizers as a result of increasing concerns about conservation of soil fertility. Plant probiotic bacteria, it is focused on protecting the environment, reducing the use of chemical fertilizers. Plant probiotic bacteria are soil bacteria that promote growth and colonize in the root zone. Inoculation of the plant with certain strains of plant probiotic bacteria has a direct effect on the growth of the plant's root and shoots, which increases biomass production. These bacteria also help to improve product quality. For this reason, these microorganisms called plant probiotic bacteria, are defined as environmentally friendly, which will contribute to the production of food and feed in order to sustain the world population with their use as biofertilizer. In this review, the mechanisms of rhizobacteria as plant probiotic bacteria on plant growth are summarized.

ARTICLE HISTORY

Received

05 December 2018

Accepted

30 January 2019

KEY WORDS

Plant probiotic bacteria, biofertilizer, promoting plant growth, active mechanisms

Giriş

Günümüzde, artan nüfusun gıda ihtiyacını karşılamak için yapılan yoğun tarımsal işlemler; zararlı ve hastalıkları arttırdığından pestisid kullanımını teşvik etmiş, daha fazla verim almak için kimyasal gübrelere kullanımını artırmıştır. Hem pestisid hem de kimyasal gübrelere kullanımını canlıların sağlığını olumsuz etkilemekte, ekosistemleri kirleterek yüzey suyu ve/veya yeraltı su kaynaklarında birikmektedir. Dünya nüfusunun 2050 yılında yaklaşık 9.5 milyara

¹ Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa

* Correspondence: ckucuk@harran.edu.tr

ulaşacağı tahmin edildiğinden [1], yüksek verimli, biyotik ve abiyotik streslere karşı daha dirençli ürünler yetiştirmek için çevre ile dost yeni uygulamaların bulunması zorunlu hale gelmiştir [2]. Diğer yandan gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek kaliteli ve sağlıklı gıdalara olan talep artış göstermiştir [3]. Bu anlamda, mikroorganizmaların özellikle bakterilerin, bitki gelişimini teşvik ediciler olarak bitki probiyotiklerinin birlikte kullanılması, pestisid ve kimyasal gübre kullanımının azaltılmasını sağlayarak, bitkisel verimin artırılması ve daha kaliteli ürünlerin elde edilmesine imkan vermiştir [3, 4]. Bitki probiyotik bakteri terimi ilk kez Haas ve Keel [5] tarafından bitkilerin yararlandığı bir grup mikroorganizma için tanımlanmıştır. Bu organizmalar için üç temel kriter belirlenmiştir; bunlar; i) rhizosfer kolonizasyonunda etkinlik ve rekabet gücü, ii) konakçılarında indüklenmiş sistemik (ISR) direnç oluşturma, iii) patojenler üzerine doğrudan antagonistik özellik göstermeleridir. Kloepper ve Schrot [6] ise daha önce bu bakterileri, bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) olarak adlandırmıştır. PGPR, bitkilerin çeşitli yollardan üretkenliklerini, bağışıklıklarını iyileştirme yeteneğine sahip olan, doğal olarak bulunan toprak bakterileridir. Bu toprak bakterileri bitki rizosferinde bulunur [6].

Bitki probiyotik bakterileri; ana bitki ile etkileşimlerine göre iki gruba ayrılarak sınıflandırılmıştır; (i) bitki hücreleri dışında yaşayan ve rizosfere saldıkları metabolitlerin bir sonucu olarak bitki büyümesini arttıran serbest yaşayan rizobakteriler ve (ii) bitki dokularında ve/veya hücrelerinde yaşayan, kendi metabolizmasını doğrudan konakçı bitkiyle değiştiren ve bitki gelişimlerini olumlu yönde etkileyen endofitlerdir [7]. Endofitik bakterilerin çoğu, konakçı bitkinin hücreler arası alanlarında yaşar; bununla birlikte, konakçuları ile tamamen karşılıklı etkileşimler oluşturabilen ve içinde bulunduğu bitki hücresine nüfuz edebilen bazı bakteriler vardır. Bu bakteriler bitki hücreleri içinde bakteriyel farklılaşma sürecinden geçerek özel yapıların oluşmasına neden olurlar. En iyi bilinen simbiyotik bakteriler, baklagiller ile simbiyotik bir ilişki kuran atmosferik azotu fikse edebilen *Rhizobium* bakterileridir. Bu bakteriler genel olarak kök nodülleri olarak adlandırılan özel bir kök yapısı oluştururlar [8]. Bakteriyel azot fiksasyonunun gerçekleştiği *Alnus* ağaçları gibi aktinorhizal bitkilerde nodüllerin oluşumunu indükleyen *Frankia* [9], siyanobakteriler ve sikadlar arasındaki simbiyoz, diğer simbiyotik ilişkilere örnek olarak verilebilir [10].

Yapılan birçok çalışmada, bitki probiyotik bakteriler ve bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin biyogübre olarak kullanımının bitkisel üretim ve toprak verimliliğinin artışına katkıda bulunduğu açıklanmıştır [1, 11, 12]. Bitkilerin gelişimi ve verimini iyileştiren bir veya birkaç bakteri formülasyonunu içeren bakteriyel biyogübreler son yıllarda artış göstermiştir. Bu

bakterilerin; topraklardaki besinleri bitkilerin kullanabileceği forma dönüştürerek, bitkilerin besin maddelerine erişimini artırma yoluyla besin alımını etkilediği bildirilmiştir [13]. Bununla birlikte, bu bakterilerin fitohormon biyosentezi, çevresel stresleri azaltma veya önleme mekanizmaları ile patojenlerin neden olduğu bitki hastalıklarının önlenmesi gibi bitki gelişimini desteklemek için farklı mekanizmalara sahip oldukları açıklanmıştır [13]. Bu derlemede, bitki probiyotik bakterilerinin bitkiler üzerinde etkili olan mekanizmaları, bitkisel verimi artıran çeşitli bakteri izolatları ile yapılan potansiyel uygulamalar özetlenmiştir.

Bitki Gelişimini Teşvik Mekanizmaları

Rizobakteriler, aşağıda verilen etki mekanizmalarına göre gruplandırılabilen geniş bir mekanizma yelpazesi aracılığıyla bitki gelişimini destekleyebilmektedir; (i) doğrudan bitkiler tarafından asimile edilebilen maddelerin sentezi, (ii) besinlerin mobilizasyonu, (iii) bitki stres direncinin indüklenmesi, (iv) bitki hastalıklarının önlenmesidir [1]. Bitki gelişimini teşvik edici özelliklere sahip bazı bakteriler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bazı bitki probiyotik bakteriler ve bitki gelişimini teşvik mekanizmaları

Bitki gelişimini teşvik eden özellikleri	Bitki probiyotik bakteriler	Konukçu Bitki	Kaynak
Azot fiksasyonu	<i>Azotobacter</i> sp.	çeşitli tahıllar, tütün,çay	[14]
	<i>Bacillus</i> sp.	çeltik	[15]
	<i>Frankia</i> sp.	<i>Alnus</i> cinsi ağaçlar	[9]
	<i>Rhizobium</i> spp.	baklagiller	[16]
	<i>Pseudomonas</i> sp.	çeltik	[15]
	<i>Herbaspirillum</i> sp.	sorghum, mısır, fasulye	[15]
Fosfat çözünümü	<i>B.megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i>	buğday, çeltik	[17]
	<i>B.subtilis</i>	buğday	[18]
	<i>B.circulans</i>	buğday	[19]
	<i>Rhizobium</i> sp.	mısır	[19]
	<i>Bacillus</i> sp.	çilek	[20]
	<i>Micrococcus</i> sp.	domates	[20]
	<i>Pseudomonas</i> sp.	domates	[18]
Potasyum çözünümü	<i>Flavobacterium</i> sp.	marul	[20]
	<i>Bacillus</i> sp.	sudan otu, mısır	[19]
	<i>Paenibacillus</i> sp.	biber	[19]
Çinko çözünümü	<i>Pseudomonas</i> sp.	tütün	[21]
	<i>Rhizobium</i> sp.	çeltik	[22]
	<i>Azospirillum</i> sp.	buğday	[22]
	<i>B.megaterium</i>	buğday	[22]
Biyolojik kontrol	<i>B.subtilis</i>	buğday	[22]
	<i>Bacillus</i> sp.	mısır	[12]
	<i>Bacillus</i> sp.	domates	[12]
	<i>Bacillus</i> sp.	hıyar	[12]

	<i>Bacillus</i> sp.	biber, buğday	[23]
	<i>Paenibacillus</i>	domates, biber, buğday, arpa	[24]
	<i>Pseudomonas</i> sp.	pamuk, mısır, çeltik, hıyar, domates	[5]
	<i>Streptomyces</i> sp.	kakao	[25]

Moleküllerin ve Maddelerin Asimilasyon ve/veya Biyosentezi

Bitki probiyotik bakteriler ve azot fiksasyonu

Yeryüzünde oldukça bol olmasına rağmen, bitkiler için azot (N); aminoasitlerin oluşumu ve daha sonra proteinler için gerekli olan besin maddesidir. Bazı prokaryotlar, atmosferik azotun organik formlara kombine edilmesi veya dönüştürülmesi sürecini yönetmekte, bu da nihayetinde bitkiler tarafından asimile edilebilmektedir [14, 15]. Serbest yaşayan rizobakteriler arasında *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Gluconoacetobacter* ve *Herbaspirillum* türlerinin üyeleri azot fikse edici mikroorganizmalar olarak rapor edilmiştir [15]. *Azospirillum* cinsi genellikle ılıman bölgelerdeki hububatlar ile ilişkili olup ayrıca bazı baklagillerde ve şeker kamışlarında bitki verimini arttırmıştır [15, 26, 27]. *Azotobacter*'in bazı izolatları buğday, arpa, yulaf, çeltik veya mısır gibi çeşitli tahıllar için biyogübre olarak test edilmiş; ayçiçeği, domates, pancar, tütün, çay, kahve ve hindistan cevizi gibi diğer bitki türlerinde de etkinlikleri belirlenmiştir [15, 28]. *Gluconoacetobacter*, *Azospirillum* ve *Herbaspirillum* cinslerine ait bazı türler şeker kamışı bitkisinin endofitleri olarak bitki beslenmesinde rol oynayan azot fiksatörleri olarak hareket etmişlerdir [14, 29]. *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinslerinin serbest yaşayan azot fikserleri olduğu tespit edilmiş, bu da onları biyogübre olarak uygulama için uygun adaylar haline getirmiştir [17, 30]. Üstelik, serbest yaşayan bu bakterilerin bazıları; çeltik köklerinde *Azoarcus*, *Azospirillum* ve *Burkholderia*'nın bazı suşları ile buğday bitkilerinde *Azorhizobium* suşları bitki köklerinde gelişme göstererek ürün ve bitkilerdeki azot konsantrasyonunu arttırmıştır [29]. Ayrıca, çeltik ve buğday kökleri ile ilişkili olarak bulunan *Rhizobium* ve *Bradyrhizobium* cinslerinin bazı suşları, bitki verimini ve bitkilerin besin konsantrasyonunu arttırmıştır [22]. Diğer yandan, bazı diazotropik bakteriler, esas olarak kök nodüllerinin oluşumu yoluyla bitki dokuları içinde karşılıklı olarak simbiyoz kurabilmektedir. Bu simbiyozlar *Rhizobium* ile baklagiller, *Frankia* ile aktinorhizal bitkiler ve siyanobakteriler ile sikadlar arasında bulunmaktadır [10, 15].

Bitki probiyotik bakteriler tarafından fitohormon biyosentezi

Birçok bakteriyel endofit, bitki büyümesinin ve gelişiminin farklı aşamalarındaki çeşitli süreçlerde yer alan organik moleküller olarak tanımlanan fitohormonları sentezleyebilmektedir [31]. Bu fitohormonların bazı mikroorganizmalar tarafından biyosentezi bitki patojenezinde rol oynayabilmiş; bitki gelişimini teşvik edici özellikler olarak bitki büyüme ve gelişmesine katkıda bulunmuştur [32].

Oksinler, bazı bakteriler tarafından üretilen fitohormonlar olup, bakteriyel iletişim için anahtar sinyal moleküller olarak tanımlanmıştır [31]. Oksinler arasında indol-3-asetik asit (IAA), bitkilerde en iyi bilinen ve en aktif oksin'dir. Gibberellinler tohum çimlenmesinde, kök ve yaprak büyümesi, çiçek indüksiyonu, çiçek ve meyve gelişiminde; etilen ise meyve olgunlaşması, çiçek açması veya yaprak dökülmesi gibi çeşitli süreçlerin düzenlenmesinde etkili olan bitki hormonlarıdır. Bununla birlikte, tohum çimlenmesi, ikincil kök oluşumu ve kök-saç uzamasını da teşvik etmişlerdir [31]. Bu fitohormonların hepsi bitki probiyotik rizobakterileri tarafından sentezlenmiştir [32, 33]. Oksin üreten *Bacillus* spp.'in, patates (*Solanum tuberosum*) veya çeltik (*Oryza sativa*) gibi bazı bitkilerin gelişiminde olumlu bir etki yarattığı bildirilmiştir [31, 34]. *Bacillus* cinsinin bazı üyeleri sitokinin üreticileri olarak tanımlanmıştır [31, 35]. *Bacillus megaterium* ve *Azotobacter chroococcum* suşlarının sitokinin ürettiği ve hıyar büyümesini desteklediği tespit edilmiştir [36]. Liu ve ark. [35], sitokinin üreten *Bacillus subtilis* suşları ile aşılınmış mazı fidelerinin kuraklık stresine karşı dirençli olduğunu saptamışlardır. Bazı *Paenibacillus* suşları da iyi birer fitohormon üreticisi olarak rapor edilmiştir [30]. Bent ve ark. [37] tarafından yapılan bir çalışmada *Paenibacillus polymyxa*'nın bir suşu ile aşılınmış çam (*Pinus contorta*) fideciklerinin köklerinde yüksek oranda IAA düzeyi belirlenmiştir. *Paenibacillus* cinsinin pirinç, arpa ve buğday bitkileri için fitohormon üreticisi olarak etkinlikleri tespit edilmiştir [34, 38]. *Enterobacter*, *Serratia nematodiphila*, *Sphingomonas* sp., *Serratia marcescens* suşları da iyi birer fitohormon üreticisi olarak saptanmış, şeker kamışı, buğday, biber ve soya fasulyesi ile muamele edildiğinde ürün verimlerini arttırmışlardır [27, 39, 40]. *Rhizobium* cinsi bakteriler de fitohormon sentezleyicileri olarak tanımlanmıştır. IAA üreten rhizobial suşlar, biber (*Capsicum annuum*), domates (*Solanum lycopersicum*), çilek (*Fragaria ananassa*), kırmızı karanfil (*Dianthus caryophyllus*), marul (*Lactuca sativa*) ve havuç (*Daucus carota*) gibi birçok ürünün gelişimini teşvik etmiştir [41, 42]. Nil deltasındaki tarlalardan izole edilen *Rhizobium leguminosarum* suşlarının, IAA üretiminin yanı sıra, oksin ve gibberellin üreticileri olduğu incelenmiştir [43]. *Sphingomonas* cinsi de fitohormon üreten bakteriler olarak rapor edilmiş; gibberellin üreten *Sphingomonas* sp.

LK11 suşu ile muamele edilen yoncanın gelişimi önemli ölçüde artmıştır [44]. Asaf ve ark. [39] soya fasulyesi gelişiminde; *Sphingomonas* ve *Serratia* suşları tarafından salgılanan fitohormonların olumlu etkisini açıklamışlardır. Fitohormon üretici bitki probiyotik bakterilerin bazısı, konukçuları ve ürettikleri fitohormonlar Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2 Fitohormon üreten bazı bakteriler ve konukçuları

Bakteri	Fitohormon	Bitki	Kaynak
<i>Bacillus subtilis</i>	Indol asetik asit (IAA)	Soya fasulyesi	[45]
<i>Streptomyces acidiscabies</i>	Siderofor	Yem bezelyesi	[46]
<i>Enterobacter</i> sp.	IAA	Burçak	[40]
<i>Spingomonas</i> sp. LK11	IAA, gibberellin	Domates	[47]
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	ACC-deaminaz	Yonca	[44]
<i>Pseudomonas</i> sp.	ACC-deaminaz	Buğday	[48]
<i>Serratia</i> sp.	ACC-deaminaz	Buğday	[49]
<i>Pseudomonas</i> sp.	ACC-deaminaz	Buğday	[49]
<i>Spingomonas</i> sp. TP1	Jasmonik asit, IAA, gibberellin	Soya fasulyesi	[39]
<i>Serratia marcescens</i>	IAA	Soya fasulyesi	[39]
<i>Bacillus subtilis</i> TP5	IAA	Çam	[37]
<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i> LPM-5	Siderofor	Mısır	[50]
<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i> LPM-5	Siderofor	Kanola	[50]
<i>Micrococcus yunnanensis</i> YIM 65004	Siderofor	Mısır	[50]
<i>Micrococcus yunnanensis</i> YIM 65004	Siderofor	Kanola	[50]

Bazı bakteriler, bitkilerde etilen oluşumunu hidrolize etmek için ACC deaminaz (1-aminosiklopropan-1-karboksilat deaminaz) üretmektedir. Bu nedenle, bu bakteriler bitkilerde etilen seviyelerini düzenleyerek yüksek etilen konsantrasyonlarının olumsuz etkilerinin bir kısmını önlemişlerdir [51]. Ayrıca bu moleküllerin *Rhizobium* sp. ve baklagil arasındaki nodülasyon oluşumunda da önemli bir role sahip olduğu açıklanmıştır [16]. *Rhizobium* bakterileri arasında ACC deaminaz üretimi yapan birçok suş belirlenmiştir. *Rhizobium leguminosarum* suşları ACC deaminaz üretimleri ile biber ve domates bitkisinin gelişimlerini arttırmıştır [16]. Ekzojen bir *acdS* genini (ACC deaminaz geni) ifade eden *Ensifer meliloti* suşu, yoncanın bitki gelişimini arttırmıştır [44]. *Mesorhizobium* suşundaki *acdS* geninin eksojen ekspresyonu, tuz stresinde nohut bitkilerinin gelişimini teşvik etmiştir [52]. Çok sayıda rizobiyal türlerin ACC deaminaz üretebildiği tespit edilmesine rağmen, *Pseudomonas* cinsinin

bu özel molekülün ilk üreticisi olduğu bildirilmiştir [53]. Shaharoon ve ark. [54], ACC deaminaz içeren iki *Pseudomonas* suşunun, değişen NPK besin düzeyleri ile buğday bitkilerinin gelişimlerini ve verimlerini artırdığını bildirmişlerdir. Magnucka ve Pietr [48], ACC üreten çeşitli *Pseudomonas* suşlarının buğday fidelerinin büyümesinde etkili rol oynadıklarını bildirmişlerdir. Zerrouk ve ark. [55] hurma rizosferinden izole edilen bir *Pseudomonas* suşunun gelişiminin, hem tuz hem de alüminyum stresi altında etkilenmediğini, mısır bitkileri ile aşılması sonucunda bitkinin iki farklı stres altında da gelişmesini teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Tuz stres koşulları altında *Rhizobium* ve *Pseudomonas* 'ın ACC deaminaz üreten suşları, fasulyenin gelişimi, fizyolojisi ve kalitesinde önemli oranda artış sağlamış; *Serratia* ve *Pseudomonas*'ın ACC deaminaz üreten suşları ise buğday bitkilerinin verimini artırmıştır [49]. Suarez ve ark. [56], tuzlu topraklarda *Hartmannibacter diazotrophicus*'un ACC deaminaz üreten bir suşu ile muamele edilen arpada (*Hordeum vulgare*), bitki gelişiminin arttığını tespit etmişlerdir.

Bitki probiyotik bakteriler ve besin seferberliği

Fosfor (P), bitkiler için ikinci temel besin maddesidir, topraklarda çözünürlüğü oldukça güçtür ve buna bağlı olarak, bu element, tarımda kimyasal fosforlu gübreler olarak topraklara ayrıca ilave edilmektedir. Bununla birlikte, ekim alanlarına gübre olarak uygulandığında da, fosfor hızla çözünmez hale gelir ve bu nedenle bitkiler için kullanımı oldukça zordur [20]. Bu nedenle, P çözücü bakterilerin kullanımı, çevreye zarar veren kimyasal P'lu gübrelerin kullanımlarının azaltılması açısından önemlidir. *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Deftia*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Pantoea* ve *Flavobacterium* cinsleri gibi toprak bakterilerinin etkili fosfat çözücü oldukları bildirilmiştir [57]. Havuç, arpa, şeker pancarı, marul, çilek, süs bitkileri ve baklagiller gibi bazı ürünlerin gelişimini teşvik eden birçok fosfat çözücü rizobiyal suş bulunmuştur [20, 21, 58, 59]. Garcia-Fraile ve ark. [1], fosfat çözen ve biber ile domates bitkilerinin gelişimini teşvik eden iki *Rhizobium leguminosarum* suşunu tespit etmişlerdir. Panda ve ark. [58] çeşitli bitkilerden *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Microbacterium* ve *Delftia* cinslerine ait suşlar izole etmişler ve bu suşların da antagonistik özelliklere sahip olduklarını göstermiştir. *Streptomyces* spp. buğday bitkileri için de fosfor çözücü olarak tanımlanmıştır [20].

Azot ve fosfordan sonra, potasyum (K) bitki büyümesi için gerekli olan üçüncü besindir. Bazı rizobakterilerin çözünmez potasyum formlarını kullanılabilir hale getirebildikleri incelenmiştir [18]. K çözücü bakteriyel cinslerin çeşitliliği oldukça fazla bulunmuştur [19]. En fazla sayıda

K çözücü olarak *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinsleri belirlenmiştir. *Bacillus edaphicus*'un buğdaydaki potasyum alımını arttırdığı bildirilmiştir [19], *Paenibacillus glucanolyticus* ise karabiber kuru ağırlığını arttırmıştır [60]. Potasyum çözücü *Bacillus mucilaginosus* ile aşılansın suda otu daha yüksek verime sahip olmuştur [19]. Laboratuvar koşullarında K çözücü *Bacillus mucilaginosus* ile aşılansın buğday ve mısır bitkilerinin yapraklarında klorofil içeriği ve bitki biyokütlesi artmıştır [19]. *Pseudomonas* cinsinin bir suşu, çay bitkisinin [21] ve tütünün [61] gelişmesini arttıran K çözücü olarak tanımlanmıştır. Zhang ve Kong [61] çalışmalarında; tütün bitkileri üzerinde olumlu etkisi olan bir Actinobacteria olan *Microbacterium foliorum* cinsine ait bir K çözücü tür bulmuşlardır.

Bitki probiyotik bakteriler tarafından siderofor üretimi

Sideroforlar, demirin (Fe^{+3}) çevreden taşınmasında görevli olan organik bileşiklerdir [62]. Fe^{+3} 'in bitkilere sınırlayıcı olduğu durumlarda, toprak mikroorganizmalarından elde edilen bileşikler bu sorunu gidermektedir [62]. Endofitik *Streptomyces* suşlarından elde edilen sideroforlar ve IAA ile, neem ağacı (*Azadirachta indica*) ve kakao bitkisinin gelişmesini desteklemiştir [47, 63]. Siderofor üretebilen rhizobial suşlar, potansiyel biyogübreler olarak rapor edilmiş, havuç, marul, biber, domates, çilek, kırmızı karanfil ve nohut üretimini artırmışlardır [63]. Bir siderofor üretici olan *Phyllobacterium endophyticum* PEPV15, çileklerin gelişimini ve kalitesini arttırmıştır [4]. Ghavami ve ark. [50]; kanola (*Brassica napus*) rizosferinden *Micrococcus* ve *Stenotrophomonas* cinslerine ait çeşitli suşları izole etmişlerdir, bu suşların bazılarının sera koşullarında mısır ve kanola bitkisinin gelişimini aşısız olanlara oranla arttırdıklarını rapor etmişlerdir. Karagöz ve ark. [64] tarafından alkali ve asidik topraklardan 95 bakteri suşu izole edilmiş, suşlardan 5'inin azotu fikse edebildiği, siderofor üretebildiği ve fosfatı çözebildiği saptanmıştır.

Bitki probiyotik bakteriler tarafından bitkilere strese karşı direncin kazandırılması

Kuraklık, aşırı yağışın neden olduğu taşkınlar, aşırı sıcaklıklar veya tuzluluk, ağır metal kaynaklı fitotoksinite ve oksidatif stres gibi durumlardan kaynaklanan abiyotik stres, dünya çapında ürün kaybının başlıca nedenidir [65]. Liddycoat ve ark. [66], sera koşullarında su stres koşullarında üretilen kuşkonmaz tohumunun çimlenme ve fide gelişimini arttıran *Pseudomonas* suşlarını tespit etmişlerdir.

P.fluorescens MSP-393 suşu, tuzlu topraklarda yetiştirilen birçok ürünün gelişimini olumlu etkilemiş, *P.putida* Rs-198 ise tuza maruz kalmış topraklarda pamuk fidelerinin çimlenme oranını, gelişimini arttırmıştır [67]. Bu *Pseudomonas* türleri tuz stresine karşı koruyucular

olarak hareket ederek, Mg^{+2} , K^{+} ve Ca^{+2} emilimini arttırmış, Na^{+} tutulumunu azaltarak, IAA üretimi ile bitkilerin gelişimine katkıda bulunmuşlardır [67]. Tuz stres koşullarında yetiştirilen yerfıstığının bakteri suşları ile aşılması, aynı koşullarda azot gübresi uygulamasından elde edilen sonuçlara benzerlik göstermiş ve araştırmacılar *Paenibacillus alcaligenes*, *Bacillus polymyxa* ve *Mycobacterium phlei* suşları, yüksek sıcaklık ve tuzlu koşullarda yer fıstığı (*Arachis hypogaea*) büyümesini ve topraktan besin alımını olumlu yönde etkilediklerini açıklamışlardır [68].

PGPR mekanizmalarına sahip rizobakterilerin kirleticileri parçalayabilen ve kirlenmiş topraklarda bitki gelişimini mümkün kılan özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir [69]. Siderofor, ACC-deaminaz ve fitohormonlar üreten *Pseudomonas* ve *Bacillus* suşları ile aşılansın hint hardalı (*Brassica juncea*) bitkileri tarafından topraktaki nikel depolanabilmiştir [69]. Benzer şekilde Dimkpa ve ark. [46], *Streptomyces acidiscabies*'in bir suşu tarafından üretilen sideroforların, nikel ile kirlenmiş topraklarda, börülcenin (*Vigna unguiculata*) gelişmesine yardım ederek nikeli bağladığını açıklamışlardır. *Pseudomonas*, *Azospirillum* ve *Rhizobium* cinsleri, iyi bilinen PGPR potansiyelleri dışında, bakır kontamine topraklarda yonca (*Medicago sativa*) tohumlarının koruyucuları olarak işlev görmüşlerdir [70].

Bitki probiyotik bakteriler ve bitki hastalıklarının önlenmesi

Bazı probiyotik bakterilerin, bitki patojenlerinin bazılarının gelişmesini engelleyen antibiyotik maddeleri sentezledikleri belirtilmiştir [24]. Örneğin, antibiyotik üreten *Pseudomonas* spp. suşu, buğdayda kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*'nin inhibisyonuna neden olmuştur [24]. Yüksek selenyum konsantrasyonlarına dirençli *Klebsiella*, *Bacillus*, *Acinetobacter* ve *Paenibacillus* cinslerinin farklı türleri, aynı patojenin biyokontrolünde etkili bulunmuştur [23]. *Bacillus* spp'ye ait çok sayıda suş, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve birçok patojenik fungiye karşı aktif olan antibiyotikler üretebilmiştir [26]. *Bacillus cereus* UW85, yoncada kök çürüklüğü kontrolünde etkili olmuştur [26]. *Bacillus subtilis*'in iki suşu, soya fasulyesi tohumlarını etkileyen çeşitli patojenlere karşı antibiyotikler üretebildiği gibi, bu bitkinin gelişimini ilerletmiştir [45]. Selülaz, kitinaz ve β -glukonaz gibi hidrolitik enzimler, patojenlerin biyokontrolünde önemli rol oynar, çünkü selüloz, kitin ve β -glukan, fungal hücre duvarının ana bileşenleridir. Kitinaz ve β -glukonaz salgılayan bakteriler, fungal gelişmeyi engellemişlerdir. Kumar ve ark. [71], *Sinorhizobium fredii* KCC5 ve *Pseudomonas fluorescens* LPK2'nin kitinaz ve β -glukonaz ürettiğini ve *Fusarium* tarafından oluşturulan hastalık şiddetini azalttığını bildirmişlerdir.

Kitinaz ve β -glukonaz üreten bir *Pseudomonas* spp. suşu, dünyadaki birçok tarımsal ürünü en tahrip edici patojenlerden olan *Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora capsici*'nin neden olduğu hastalıkları önlemede başarılı bulunmuştur [26]. Sellülaz üreten *Micromonospora* ve antibiyotik üreten *Streptomyces*'den oluşan kombinasyon, *Phytophthora cinnamomi*'nin neden olduğu kök çürüklüğünü baskılamıştır [72]. *Pythium aphanidermatum*'un neden olduğu, hıyar bitkilerinde damping-off (devrilme) hastalığının önlenmesinde sellülaz üreten *Streptomyces* suşları etkili bulunmuştur [72]. *Micromonospora* sp., bitki probiyotiği olarak rapor edilmiş, *Botrytis cinerea* tarafından etkilenen domates bitkilerinde sistemik direnci indükleyebilmiştir [73]. Yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas*'ın iki suşu ve mikoriza karışımının, domates bitkilerini kök-ur nematodlarına karşı koruduğu rapor edilmiştir [74]. Mikrobiyal sideroforlar, bitki gelişimini teşvik etme özelliklerinin yanı sıra, bitki patojenlerinin kontrolünde, fitopatogenler için ortamdaki mevcut demiri sınırlandırarak da önemli rol oynarlar [62]. Bu anlamda *Pseudomonas siderophores*, patates bitkilerinde *Fusarium oxysporum* enfeksiyonunu kontrol etmiş, *Pseudomonas* ve *Bacillus* suşları ise mısır bitkilerinde çeşitli fungal patojenleri inhibe eden sideroforlar üretmişlerdir [62]. Yu ve ark. [75], *Bacillus subtilis* olarak tanımlanan bir siderofor üretici suşun, *Fusarium* solgunluğu üzerinde biyolojik kontrol oluşturduğunu ve biber gelişimini desteklediğini bildirmişlerdir. Verma ve ark. [12] neem ağacının (*Azadirachta indica*) rizosferinden izole edilen endofitik *Streptomyces* suşlarının, biyokontrol potansiyeli olan sideroforlar ürettiğini bildirmişlerdir. Fitohormon üreten bakteriyel türler aynı zamanda fitoplazmaya bağlı hastalıklar için uygun biyokontrol etmenler olarak belirlenmiştir [62]. Gamalero ve ark. [51], ACC deaminaz üreten *Pseudomonas* suşunun, bitkide fitoplazmalarının enfeksiyonu ile oluşan stresi azaltmada yardımcı olduğunu bildirmiştir.

Bazı probiyotik bakteri üyeleri patojenlere indüklenen sistemik yanıtı artırabilmiş ve tuzluluk gibi çevresel koşullara bağlı stresi hafifletmiştir. Örneğin, bitki probiyotik bakteri özelliklerini gösteren *Stenotrophomonas maltophilia*, buğday bitkilerinin tuz stresinden etkilenmeden gelişmesini sağlamıştır [33]. Borriss [17], *Bacillus* ve *Paenibacillus*'un çeşitli suşlarının, soya fasulyesinde *Rhizoctonia bataticola*'nın neden olduğu kök çürüklüğünü önemli ölçüde azalttıklarını açıklamışlardır. Herrera ve ark. [76] buğday tohumlarından elde edilen *Paenibacillus* spp. ve *Pantoea* spp.'nin suşlarının, bitki probiyotik bakterilerinin özelliklerini gösterdiklerini açıklamışlar ve araştırmacılar bu suşları tek başına veya birlikte uyguladıklarında, buğday ve arpa danelerinde bulunan *Fusarium graminearum*'a karşı etkili antagonistik özellikler gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Sonuç

Günümüzde tarım; artan hayvancılık talebi ve artan insan nüfusunun ihtiyacını karşılamak için sürdürülebilir gıda ve yem üretimi, sınırlı kaynakların kullanılması (verimli topraklar gibi), geleneksel tarım uygulamalarından kaynaklanan yoğun çevresel sorunların giderilmesi gibi çeşitli zorluklarla karşı karşıya kalmaktadır. Bu sorunlar, gıda verimliliğini arttırmak için kimyasal gübre yerine organik gübrelerin (biyogübreler) uygulanması ile hafifletileceği gibi, bu amaçla yerli toprak organizmalarının keşfi ve kullanılması ile giderilecektir. Bu derlemede, son yıllarda yayınlanmış, bitki probiyotik bakterilerinin bitkilere olan potansiyel yararları ile ilgili çalışmalar özetlenmiştir. Bu yararlar, bitki patojenlerinin fito-uyarımı, besin mobilizasyonu ve biyokontrolünü içermektedir. Ayrıca, bu yararlı bakteriler, tuzluluk veya ağır metal birikimi gibi çeşitli faktörlerin oluşturduğu stresleri hafifletmeye yardımcı olmuşlardır. Bu nedenle, tek suşlarla formüle edilen biyogübrelerin veya farklı etkileri olan bitki probiyotik bakterilerin getirilerek uygulanması, ekosistemlerin korunması ve gıda kalitesinin artırılması ile kimyasal gübrelere karşı olası bir çözüm olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, bitki probiyotik bakterilerden oluşturulan etkili ve güvenli ürünlerin geliştirilmesi için tarım ile uğraşan araştırmacılar, politikacılar ve çiftçiler arasında bir iletişiminin oluşturulması, araştırma programlarının ve politikaların ortaya konması gerekmektedir. Bu durum sadece üreticiler için değil, aynı zamanda insan sağlığı ve dünyamızın temizliği içinde son derece önemlidir.

Kaynaklar

1. Garcia-Fraile, P., E. Menendez, and R. Rivas, Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, 2015. 2: p.183–205.
2. Araus J, et al., Phenotyping and other breeding approaches for a New Green Revolution. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014. 56: p. 422–424.
3. Garcia-Fraile, P., et al., *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: towards a biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. *PLoS One*, 2012. 7: p. 1-7.
4. Flores-Felix, J.D., et al., Plants probiotics as a tool to produce highly functional fruits: the case of *Phyllobacterium* and vitamin C in strawberries. *PLoS One*, 2015. 10: p. 1-101.
5. Haas, D., and C. Keel, Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual Review Phytopathology*, 2003. 41: p. 117–153.
6. Klopper, J., and M. Schrot, Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. France, 1978. 2: 879–882.
7. Hardoim, P.R., et al., The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology Molecular Biology Reviews*, 2015. 79: p. 293–320.
8. Suzaki, T. and M. Kawaguchi, Root nodulation: a developmental program involving cell fate conversion triggered by symbiotic bacterial infection. *Current Opinion in Plant Biology*, 2014. 21: p. 16-22.

9. Pawlowski, K., and K.N. Demchenko, The diversity of actinorhizal symbiosis. *Protoplasma*, 2012. 249: p. 967–979.
10. Vessey, J.K., K. Pawlowski, and B. Bergman, Root-based N₂-fixing symbioses: Legumes, actinorhizal plants, *Parasponia* sp. and cycads. *Plant Soil*, 2005. 274: p. 51–78.
11. Bhattacharyya, P.N., and D.K. Jha, Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 2012. 28: p. 1327–1350.
12. Vejan, P., et al., Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability. *Molecules*, 2016. 21: p. 573-580.
13. Malua, E., and N. Vassilev, A contribution to set a legal framework for biofertilisers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014. 98: p. 6599–6607.
14. Tejera, N. et al., Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant and Soil*, 2005. 270: p. 223-232.
15. Santi, C., D. Bogusz, and C. Franche, Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany*, 2013. 111: p. 743–767.
16. Nascimento, F.X., et al., The role of rhizobial ACC deaminase in the nodulation process of leguminous plants. *International Journal of Agronomy*, 2016. 1: p.1-10
17. Borriss, R., *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium, In: *Principles of Plant-Microbe Interactions*, 2015. Springer International Publishing, 379–391.
18. Jaiswal, D.K. et al., Potassium as an important plant nutrient in sustainable agriculture: a state of the art, In: *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*, 2016, Springer India, 21–29.
19. Velazquez, E., et al., Diversity of potassium-solubilizing microorganisms and their interactions with plants, In: *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*, 2016. Springer India, 99–110.
20. Sharma, S.B., et al., Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus*, 2013. 2: p.587-592.
21. Bagyalakshmi, B., P. Ponnuragan, and S. Marimuthu, Influence of potassium solubilizing bacteria on crop productivity and quality of tea (*Camellia sinensis*). *African Journal of Agricultural Research*, 2012. 7: p. 4250– 4259.
22. Mishra, R.P., et al., *Rhizobium*-mediated induction of phenolics and plant growth promotion in rice (*Oryza sativa* L.) *Current Microbiology*, 2006. 52: p. 383–389
23. Duran, P., et al., Endophytic bacteria from selenium- supplemented wheat plants could be useful for plant-growth promotion, biofortification and *Gaeumannomyces graminis* biocontrol in wheat production. *Biology and Fertility Soils*, 2014. 50: p.983–990.
24. Ulloa-Ogaz, A.L., L.N. Munoz-Castellanos, and G.V. Nevarez-Moorillon, Biocontrol of phytopathogens: Antibiotic production as mechanism of control, In: *Mendez-Vilas, A., The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*, 2015. 305–309.
25. Boudjeko, T., et al., *Streptomyces cameroonensis* sp. nov., a Geldanamycin producer that promotes *Theobroma cacao* growth. *Microbes and Environments*, 2017. 32: p.24–31.
26. Maksimov, I.V., R.R., Abizgildina, and L.I. Pusenkova, Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens. *Applied Biochemistry Microbiology*, 2011. 47: p. 333–345.
27. Taule, C., et al., The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. *Plant Soil*, 2012. 356: p. 35–49.
28. Van Oosten, M.J., et al., Root inoculation with *Azotobacter chroococcum* 76A enhances tomato plants adaptation to salt stress under low N conditions. *BMC Plant Biology*, 2018. 18: p. 205- 211.
29. Chebotar, V.K., et al., Endophytic bacteria in microbial preparations that improve plant development. *Applied Biochemistry Microbiology*., 2015. 51: p. 271–277.
30. Grady, E.N., et al., Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial Cell Factories*, 2016. 15: p. 203-217.
33. Singh, R.P., and P.N. Jha, The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against Biotic and Abiotic Stress in Wheat Plants. *Frontiers in Microbiology*, 2017.8: p. 1945-1960 .

31. Sokolova, M.G., G.P. Akimova, and O.B. Vaishlya, Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants. *Applied Biochemistry Microbiology*, 2011. 47: p. 274–278.
32. Spaepen, S., Plant Hormones Produced by Microbes, In: Lugtenberg, B., Editor, *Principles of Plant-Microbe Interactions*, Switzerland: Springer International Publishing, 2015. p. 247–256.
34. Beneduzi, A., et al. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-fixing bacilli isolated from rice fields in South Brazil. *Applied Soil Ecology*, 2008. 39: p. 311–320.
35. Liu, F., et al., Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2013. 97: p. 9155–9164.
36. Aloni, R., et al., Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Annals Botany*, 2006. 97: p. 883–893.
37. Bent, E., et al., Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001. 47: p. 793–800.
38. Bakaeva, M.D., S.P. Chetverikov, and O.N. Loginov, The new bacterial strain *Paenibacillus* sp. IB-1: A producer of exopolysaccharide and biologically active substances with phytohormonal and antifungal activities. *Applied Biochemistry Microbiology*, 2017. 53: p. 201–208.
39. Asaf, S., et al., Bacterial endophytes from arid land plants regulate endogenous hormone content and promote growth in crop plants: an example of *Sphingomonas* sp. and *Serratia marcescens*. *Journal of Plant Interactions*, 2017. 12: p. 31–38.
40. Ghosh, P.K., S.K., Sen, and T.K. Maiti, Production and metabolism of IAA by *Enterobacter* spp. (Gammaproteobacteria) isolated from root nodules of a legume *Abrus precatorius* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2015. 4: p. 296–303.
41. Flores-Felix, J.D., et al., Use of *Rhizobium leguminosarum* as a potential biofertilizer for *Lactuca sativa* and *Daucus carota* crops. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013. 176: p. 876–882.
42. Flores-Felix, J.D., et al., *Rhizobium* as plant probiotic for strawberry production under microcosm conditions. *Symbiosis*, 2015. 67: p. 25–32.
43. Yanni, Y.G., et al., Assessment of the natural endophytic association between *Rhizobium* and wheat and its ability to increase wheat production in the Nile delta. *Plant Soil*, 2016. 407: p. 367–383.
44. Kong, Z., et al., Effects of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase-overproducing *Sinorhizobium meliloti* on plant growth and copper tolerance of *Medicago lupulina*. *Plant Soil*, 2015. 391: p. 383–398.
45. Araujo, F.F., A.A. Henning, and M. Hungria, Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2005. 21: p. 1639–1645
46. Dimkpa, C., et al., Hydroxamate siderophores produced by *Streptomyces acidiscabies* E13 bind nickel and promote growth in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) under nickel stress. *Canadian Journal of Microbiology*, 2008. 54: p. 163–172.
47. Khan, A.L., et al., Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, 2014. 52: p. 689–695.
48. Magnucka, E.G., and S.J. Pietr, Various effects of fluorescent bacteria of the genus *Pseudomonas* containing ACC deaminase on wheat seedling growth. *Microbiological Research*, 2015. 181: p. 112–119.
49. Zahir, Z.A., et al., Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Arch Microbiol.*, 2009. 191: p. 415–424.
50. Ghavami, N., et al., Effects of two new siderophore producing rhizobacteria on growth and iron content of maize and canola plants. *Journal of Plant Nutrition*, 2016. 40: p. 736–746.
51. Gamalero, E., and B.R. Glick, Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant Physiology*, 2015. 169: p. 13–22.

52. Brigido, C., et al., Expression of an exogenous 1- aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase gene in *Mesorhizobium* spp. reduces the negative effects of salt stress in chickpea. *FEMS Microbiol Letters*, 2013. 349: p. 46–53.
53. Glick BR (2014) Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol Research*, 169: 30–39.
54. Shaharoon, B., et al., Fertilizer-dependent efficiency of *Pseudomonas* for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008. 79: p. 147–155.
55. Zerrouk, I.Z., et al., A *Pseudomonas* strain isolated from date- palm rhizospheres improves root growth and promotes root formation in maize exposed to salt and aluminum stress. *Journal of Plant Physiology*, 2016. 191: p. 111–119.
56. Suarez, C., et al., Plant growth-promoting effects of *Hartmannibacter diazotrophicus* on summer barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. *Applied Soil Ecology*, 2015. 95: p. 23–30.
57. Dastager, S.G., C.K. Deepa, and A. Pandey, Isolation and characterization of novel plant growth promoting *Micrococcus* sp NII-0909 and its interaction with cowpea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010. 48: p. 987–992.
58. Panda, P., S. Chakraborty, and D.P. Ray, Screening of phosphorus solubilizing bacteria from tea rhizosphere soil based on growth performances under different stress conditions. *International Journal of Biological Sciences*, 2016. 3: p. 39–56.
59. Şahin, F., R.Çakmakçı, and F. Kantar, Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂ fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 2004. 265: p. 123-129.
60. Sangeeth, K.P., R.S. Bhai, and V. Srinivasan, *Paenibacillus glucanolyticus*, a promising potassium solubilizing bacterium isolated from black pepper (*Piper nigrum* L.) rhizosphere. *Journal of Spices Aromatic Crops*, 2012. 21: p. 118-124.
61. Zhang, C., and F. Kong, Isolation and identification of potassium solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. *Applied Soil Ecology*, 2014. 82: p.18-25.
62. Saha, M., et al., Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016. 23: p. 3984–3999.
63. Verma, V.C., S.K. Singh, and S. Prakash, Bio-control and plant growth promotion potential of siderophore producing endophytic *Streptomyces* from *Azadirachta indica* Juss. *Journal of Basic Microbiology*, 2011. 51: p. 550–556.
64. Karagöz, K., et al., Characterization of plant growth promoting traits of bacteria isolated from the rhizosphere of grapevine grown in alkaline and acidic soils. *European Journal of Soil Biology*, 2016. 50: p. 144-150.
65. Wang, W., B. Vinocur, and A. Altman, Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 2003. 218: p. 1–14.
66. Liddycoat, S.M., B.M. Greenberg, and D.J. Wolyn, The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on asparagus seedlings and germinating seeds subjected to water stress under greenhouse conditions. *Can J Microbiol.*, 2009. 55: p. 388–394.
67. Paul, D., and S. Nair, Stress adaptations in a Plant Growth Promoting Rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *Journal of Basic Microbiology*, 2008. 48:p. 378–384.
68. El-Akhal, M.R., et al., Effects of salt stress and rhizobial inoculation on growth and nitrogen fixation of three peanut cultivars. *Plant Biol (Stuttg)*, 2013. 15: p. 415–421
69. Ma, Y., M. Rajkumar, and H. Freitas, Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica spp.* *Chemosphere*, 2009. 75: p. 719–725.
70. Carrillo-Castaneda, G., et al., Plant growth-promoting bacteria promote copper and iron translocation from root to shoot in alfalfa seedlings. *Journal of Plant Nutrition*, 2002. 26: p. 1801– 1814.
71. Kumar, H., V.K. Bajpai, and R.C. Dubey, Wilt disease management and enhancement of growth and yield of *Cajanus cajan* (L) var. Manak by bacterial combinations amended with chemical fertilizer. *Crop Protection*, 2010. 29: p. 591–598.

72. El-Tarabily, K.A. Rhizosphere-competent isolates of streptomycete and non-streptomycete actinomycetes capable of producing cell-wall-degrading enzymes to control *Pythium aphanidermatum* damping-off disease of cucumber. *Canadian Journal of Botany*, 2006. 84: p. 211–222.
73. Martínez-Hidalgo, P., J.M. Garcia, and M.J. Pozo, Induced systemic resistance against *Botrytis cinerea* by *Micromonospora* strains isolated from root nodules. *Frontiers in Microbiology*, 2015. 6: p. 1-11
74. Sharma, I.P., and A.K. Sharma, Effective control of root-knot nematode disease with *Pseudomonad* rhizobacteria filtrate. *Rhizosphere*, 2017. 3: p. 123–125.
75. Yu, X., et al., The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper. *European Journal of Soil Biology*, 2011. 47: p. 138–145
76. Herrera, S.D., et al., Wheat seeds harbour bacterial endophytes with potential as plant growth promoters and biocontrol agents of *Fusarium graminearum*. *Microbiological Research*, 2016. 186: p. 37–43.

Yozgat İli Hayvansal Kaynaklı Atıkların Biyogaz ve Enerji Potansiyellerinin Belirlenmesi

Muhammed Taşova^{1*}, Serkan Yazarel¹

ÖZET

Yenilenebilir enerji kaynaklarından biri olan biyogaz hem kullanım avantajı hem de ülkemizdeki ham madde kaynakları açısından önemli potansiyele sahiptir. Ülkemizde organik kökenli (bitkisel, hayvansal, evsel ve kanalizasyon) atıklardan elde edilebilecek biyogaz enerjisi potansiyelinin ortalama % 40'ını kullanılmaktadır. Bu durum mevcut biyogaz potansiyelinin daha etkin bir şekilde kullanılması ve enerji dar boğazının azaltılması için bir fırsat olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada; Yozgat iline ait Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2013-2017 yılları arasındaki hayvan sayısı (Büyükbaş, küçükbaş ve kümes) verileri kullanılarak yıllara göre yaş atık (ton/yıl), kuru madde (ton/yıl), biyogaz (m³/yıl), ısı (GJ/m³.yıl) ve elektrik enerjisi (kWh/yıl) değerleri belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre büyükbaş hayvanlarından kuru madde ve biyogaz enerji potansiyeli 2013 yılında belirlenirken, küçükbaş ve kümes hayvanlarından ise en fazla 2015 yılında olduğu tespit edilmiştir. İncelenen yıllar arasında toplam hayvansal kaynaklı kuru madde ve biyogaz potansiyel değerleri en fazla 2013 yılında belirlenmiş olup sırasıyla; 420.988 ton kuru madde ve 13.892,63 m³ biyogaz potansiyeline sahip olduğu hesaplanmıştır.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş 14 Şubat 2019
Kabul 20 Mart 2019

ANAHTAR KELİMELER

Yozgat, kuru madde, biyogaz ve enerji

Determination of Biogas and Energy Potential of Animal Wastes in Yozgat Province

ABSTRACT

Biogas, which is one of the renewable energy sources, has significant potential in terms of both usage advantage and raw material resources in our country. In our country, we use an average of 40% of the biogas energy potential that can be obtained from organic origin (vegetable, animal, domestic and sewage) wastes. This is thought to be an opportunity to use the existing biogas potential more effectively and to reduce the energy bottleneck. In this study; Yozgat, the province of Turkey Statistical Institute (TSI), the number of animals between 2013 to 2017 years (cattle, sheep and poultry) years of age by years using data from waste (tons/year), dry matter (tons/year), biogas (m³/year), heat (GJ/m³.year) and electrical energy (kWh/year) values were determined. According to the findings, dry matter and biogas energy potential from cattle was determined in 2013, while it was found that it was in 2015 from small ruminants and poultry. The total value of dry matter and biogas from animal origin was determined as maximum in 2013 that 420.988 tons of dry matter and 13.892,63 m³ biogas potential has been calculated.

ARTICLE HISTORY

Received
14 February 2019
Accepted
20 March 2019

KEY WORDS

Yozgat, dry mass, biogas and energy

Giriş

Ekonomik kalkınma ve yaşam kalitesi göstergelerinden birisi de enerji tüketim miktarıdır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de enerji tüketim miktarları, nüfusun artması ve teknolojinin

¹ Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü

*Sorumlu yazar: muhammed.tasova@gop.edu.tr

gelişmesiyle beraber her yıl artmaktadır [1]. Türkiye'nin son yıllardaki enerji üretim ve tüketim miktarlarına göre, tükettiği enerji değerinin ancak ortalama üçte birini üretebilmektedir. Ülkemizde 2020 yılına kadar hem enerji tüketim hem de üretim değerlerinde büyük bir artış olacağı ön görülmektedir [2-3]. Bu durum özellikle Türkiye gibi tarımsal potansiyeli yüksek olan ülkelerin bitkisel ve hayvansal atıklarını daha verimli bir şekilde kullanarak biyokütle enerjisine dönüştürmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Günümüzde bu bitkisel atıklar genellikle toprak altına gömülmede ya da yakılarak en verimsiz şekilde kullanılarak çevresel kirliliğe yol açmaktadır.

Ülkemizde üretilen toplam biyogaz miktarının % 85'i hayvansal kaynaklı atıklardan sağlanmaktadır [4-5]. Ayrıca ekonomik seviyenin gelişmesi ve nüfusun artmasıyla beraber hayvancılık faaliyetlerinde de bir gelişme görülmektedir. Dolayısıyla hayvansal kaynaklı atık miktarı da bu gelişmeyle birlikte artacaktır. Ancak ülkemiz hayvansal atık potansiyeli bakımından önemli değerleri sahip olmasına rağmen bundan enerjiye dönüştürme konusunda gereği kadar yararlanamamaktadır. Ülkemizde 2009 yılına ait hayvan sayısı değerlerine göre elde edilebilecek biyogaz üretim potansiyel değerleri araştırılmıştır. Çalışmaya göre hayvansal atıklardan ortalama 2.18 Giga metreküp biyogaz üretim potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir [6].

Literatürde hayvansal ve bitkisel atıklardan bölge, yöre ve işletme bazında elde edilebilecek biyogaz miktarı ve enerji potansiyeli çalışmaları yapılmıştır. Örneğin; Türkiye'nin hayvansal ve tahıl sap atıklarının [3], Düzce ili'ne ait hayvansal atıkların [7], Hatay ili'nde ki hayvansal atıkların [8], Çanakkale ili'nde bulunan zeytin üretimi esnasında oluşan atıkların [9], Afyonkarahisar ili'ne ait bitkisel kökenli atıklardan elde edilebilecek biyogaz ve enerji potansiyel değerleri belirlenmiştir [10].

Bu çalışmada, Yozgat iline ait 2013-2017 yılları arasındaki hayvansal kaynaklı atıklardan elde edilebilecek kuru madde, biyogaz, ısı ve elektrik enerjisi potansiyel değerleri belirlenmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışma yeri ülkemizin 38° 57' 45.5"N 40° 14' 37.4"N Kuzey enlemleri ile 34° 04' 23.7"E 36° 09' 25.0"E Doğu boylamları arasında yer almaktadır [11]. Yozgat, İç Anadolu Bölgesinde yer alan bir il olmasının yanında, Çekerek, Aydıncık ve Kadışehri ilçelerinin konumları açısından da Karadeniz Bölgesinde yer almaktadır. Yozgat ili Nüfusu: 421.041 kişi olup bunların, % 74.31'i şehirde yaşamaktadır. İlin yüzölçümü 13.690 km²'dir (Şekil 1) [12].



Şekil 1 Yozgat ilinin konumu [13]

Yozgat ili'nin tarım, orman, çayır-mera ve tarım dışı alan dağılım büyüklükleri (da) ve oluşturdukları %'lik oranları tablo 1'de verilmiştir [14].

Tablo 1 Yozgat ilinin arazi dağılımı

Arazinin Cinsi	Yüzölçümü (ha)	Toplam Araziye oranı (%)
Tarıma elverişli alan	779.440	58.08
Orman alanı	268.637	20.02
Çayır-mera alanı	260.153	19.39
Tarım dışı alan	33.675	2.51
Toplam	1.341,905	100.00

Tablo 1'e göre Yozgat ili'nin arazi dağılımında yüzde olarak en büyük payı tarım alanları oluştururken, en küçük payı ise tarım dışı alanlar oluşturmaktadır.

Çalışma alanındaki mevcut hayvan sayısı

Yozgat ili ne ait 2013-2017 yıllarına ait hayvan sayıları Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) resmi sitesinden temin edilerek belirtilen yıllara ait toplam hayvan sayıları içerisindeki % oran dağılımları hesaplanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2 Yozgat ili hayvan sayıları [15]

Yıllar	Hayvan grupları	Hayvan sayıları	Toplam hayvan sayısına oranı (%)*
2013	Büyükbaş	273.457	20.04
	Küçükbaş	377.251	20.32
	Kümes	714.074	59.64
	Toplam	1.364,782	100.00
	Büyükbaş	247.833	16.99

2014	Küçükbaş	396.063	27.16
	Kümes	814.459	55.85
	Toplam	1.458,355	100.00
2015	Büyükbaş	244.381	14.38
	Küçükbaş	407.831	23.99
	Kümes	1047.705	61.63
	Toplam	1.699,917	100.00
2016	Büyükbaş	206.083	16.28
	Küçükbaş	312.272	24.66
	Kümes	747.825	59.06
	Toplam	1.266,180	100.00
2017	Büyükbaş	235.570	18.35
	Küçükbaş	348.629	27.15
	Kümes	699.823	54.50
	Toplam	1.284,022	100.00

* Hesaplanan değer

Tablo 2'ye göre, Yozgat ili'ne ait belirlenen yıllar içerisinde en fazla toplam hayvan sayısı 1.699,917 ile 2015 yılındayken en az hayvan sayısı ise 1.266,180 ile 2016 yılında olduğu görülmektedir. Belirlenen tüm yıllarda kümes hayvan sayıları diğer büyük ve küçükbaş hayvan sayılarına göre daha fazla olmuştur. %'lik oran açısından incelendiğinde % 61.63 ile en fazla kümes hayvan sayısı oranı 2015 yılında olduğu görülmektedir. Hayvansal atıklardan elde edilebilecek biyogaz potansiyel değerlerinin belirlenmesinde kullanılan matematiksel eşitlikler;

$$YAP = THS \times HBA$$

Burada; YAP, yıllık yaş atık miktarı (ton/yıl); THS, toplam hayvan sayısı (n); HBA, hayvan türüne göre yıllık yaş atık miktarı (ton/yıl); küçük hayvanlar için kullanılan sabit değer.

$$KGM = YAP \times \theta$$

Burada; KGM, yıllık katı gübre miktarı (ton/yıl); θ , hayvanların ağıl dışında dolaşması ve atıktaki suyun buharlaşmasına bağlı katsayı.

$$BÜP = KGM \times HBÜB$$

Burada; BÜP, biyogaz üretim potansiyeli (m³/yıl); HBÜB, hayvan türüne göre yıllık biyogaz üretim sabit değeri.

$$BSI = BÜP \times \Upsilon \times 0.0000041868$$

Burada; BSI, biyogazdan üretilebilecek ısı miktarı (GJ/m³.yıl); Υ , sağlanan ısı enerjisini kcal cinsinden değeri; 0.0000041868 katsayısı birimi GJ 'e dönüştürmek için kullanılan katsayı.

$$BSE = BÜP \times f$$

Burada; BSE, biyogazdan üretilebilecek elektrik enerjisi miktarı (kWh/yıl); f , 1 m³ biyogazdan elde edilebilecek elektrik enerji değeri.

$$HS = BSE / 3036$$

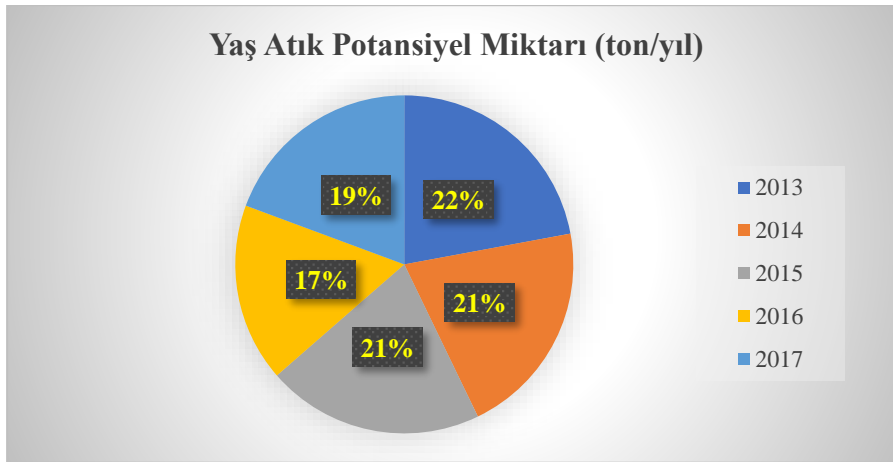
Burada; HS (n), hane sayısı; 3036 (kWh/yıl), dört kişilik hanenin yıllık tükettiği elektrik enerji değeri.

Hayvan gruplarına göre toplam yaş atık potansiyel miktarları Akbulut ve Dikici'nin 2004 yılında yaptıkları çalışma ile Gürel'in 2010 yılında yapmış olduğu çalışmalardaki ortak yöneme göre belirlenmiştir [16-17]. Yıllık ortalama kuru madde potansiyel değeri ise Baran ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada belirtilen yöneme göre tespit edilmiştir [18]. Belirlenen yıllık ortalama biyogaz potansiyel miktarları da Altıkat ve Çelik'in 2012 yılında yapmış oldukları çalışma izledikleri yöneme bulunmuştur [19]. Hesaplanan biyogaz potansiyelinin ısısal (GJ/m³.yıl) ve elektriksel enerji değerleri ise Taşova'nın 2017 yılında yapmış oldukları çalışma belirttiği yöneme göre belirlenmiştir [20].

Bulgular ve Tartışma

Belirlenen Hayvansal Gübre ve Biyogaz Miktarı

Tablo 2' deki Yozgat İli' ne ait hayvan sayısı değerlerine göre 2013-2017 yılları arasındaki %' lik yaş atık potansiyel oranları belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2 2013-2017 yılları arasında belirlenen toplam yaş atık potansiyelinin yıllara göre % oranları

Şekil 2' e göre son beş yıldaki toplam hayvan sayısı değerlerine göre elde edilebilecek en büyük yaş atık potansiyel oranı % 22 ile 2013 yılında olduğu belirlenirken, en küçük oran ise % 17 ile 2016 yılında olduğu belirlenmiştir.

Belirtilen yıllara göre hesaplanan yaş atık miktarlarından elde edilebilecek ortalama kuru madde ve biyogaz potansiyel miktarları belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3 Belirlenen toplam kuru madde ve biyogaz potansiyel miktarları

Yıllar	Hayvan grupları	Kuru madde potansiyeli (ton/yıl)	Biyogaz potansiyeli (m ³ /yıl)
2013	Büyükbaş	327.820	10.818,068
	Küçükbaş	87.932	2.901,928
	Kümes	5.231	172.633
	Toplam	420.983	13.892,629
2014	Büyükbaş	297.102	9.804,373
	Küçükbaş	92.322	3.046,635
	Kümes	5.967	196.902
	Toplam	400.391	13.047,910
2015	Büyükbaş	292.964	9.667,810
	Küçükbaş	95.065	3.137,158
	Kümes	7.675	180.793
	Toplam	395.704	12.985,761
2016	Büyükbaş	247.052	8.152,726
	Küçükbaş	72.791	2.402,090
	Kümes	5.479	180.793
	Toplam	325.322	10.735,609
2017	Büyükbaş	282.401	9.319,243
	Küçükbaş	81.265	2.681,759
	Kümes	5.127	169.188
	Toplam	368.793	12.170,190

Tablo 3' e göre 2013-2017 yılları arasındaki hayvan gruplarına göre, toplam kuru madde ve biyogaz potansiyel miktarları belirlenmiştir. Değerlere göre biyogaz potansiyel miktarının oluşmasında kuru madde miktarı ve hayvan grubunun etkili olduğu görülmektedir. Yıllara göre en yüksek kuru madde ve biyogaz potansiyel miktarları 2013 yılında sırasıyla; 420.983 ton/yıl ve 13.892,629 m³/yıl olarak belirlenirken, en düşük kuru madde ve biyogaz potansiyel miktarları ise 2016 yılında oluşurken sırasıyla; 325.322 ton/yıl ve 10.735,609 m³/yıl olarak belirlenmiştir.

Taşova'nın 2018 yılında yapmış oldu çalışmaya göre yerel bir hayvansal üretim çiftliğine ait yaş atık, kuru madde ve biyogaz potansiyeli değerlerini belirlediği çalışmasında, işletmenin yıllık ortalama 350 ton yaş atık, 117 ton kuru madde, 6760 m³ biyogaz elde edilebileceğini belirlemiştir [21]. Tınmaz Köse'nin Trakya bölgesi için yapmış olduğu çalışmada, TÜİK'na ait 2015 yılı küçükbaş hayvan sayısı verilerini kullanarak, ortalama 819.192 m³ metan gazı elde edilebileceğini tespit etmişlerdir [22]. Baran ve arkadaşlarının Adıyaman ili'nde ki küçükbaş hayvanlarından yıllık ortalama 214.006.800 ton gübre bu gübrelerden ise ortalama 8.274.929.600 m³ biyogaz elde edilebileceğini hesaplamışlardır [18]. Doruk ve Bozdeveci'nin 2017 yılı için Denizli ili'nde bulunan hayvansal atıklardan yıllık ortalama 125.449 kg yaş atık ve 70.16 m³ biyogaz elde edilebileceğini ifade etmişlerdir [23]. Taşova ise, Tokat ili'ne ait

2010-2014 yılları arasındaki kümes hayvanlarına ait yıllık ortalama yaş atık ve biyogaz potansiyel değerlerini çalışmasında sırasıyla; 6.052,60 kg ve 472.095,60 m³ olarak belirlemiştir [20].

Biyogaz potansiyel miktarının enerji değerleri

Yozgat ili'ne ait 2013-2017 yıllarına arasındaki hayvan sayısı verilerine göre belirlenen biyogaz potansiyel miktarının ısı ve elektrik enerjisi değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4 Belirlenen ısı ve elektrik enerjisi değerleri

Yıllar	Hayvan grupları	Isı enerjisi potansiyeli (GJ/m ³ .yıl)	Elektrik enerjisi potansiyeli (kWh/yıl)
2013	Büyükbaş	235.524	50.844,921
	Küçükbaş	63.179	13.639,061
	Kümes	3.758	811.376
	Toplam	302.461	65.295,358
2014	Büyükbaş	213.455	46.080,551
	Küçükbaş	66.329	19.319,186
	Kümes	4.287	925.439
	Toplam	284.071	66.325,176
2015	Büyükbaş	210.481	45.438,708
	Küçükbaş	68.300	14.744,644
	Kümes	5.514	11.904,618
	Toplam	284.295	72.087,970
2016	Büyükbaş	177.496	38.317,812
	Küçükbaş	52.297	11.289,823
	Kümes	3.936	849.726
	Toplam	233.729	50.457,361
2017	Büyükbaş	202.893	43.800,444
	Küçükbaş	58.386	12.604,267
	Kümes	3.683	795.183
	Toplam	264.962	57.199,894

Tablo 4'e göre 2013-2017 yılları arasında belirlenen biyogaz potansiyel miktarının ısı ve elektrik enerjisi potansiyel değerlerine göre en yüksek ısı enerjisi değeri 302.461 GJ/m³.yıl ile 2013 yılında elde edilebilirken, en düşük ise 233.729 GJ/m³.yıl değeri ile 2016 yılında elde

edilebileceği belirlenmiştir. Elektrik enerjisi potansiyel değerleri incelendiğinde ise en yüksek değer 72.087,97 kWh/yıl ile 2015 yılında elde edilebilirken, en küçük değer ise 50.457,36 kWh/yıl ile 2016 yılında elde edilebileceği belirlenmiştir.

Belirlenen değerlere göre, hayvan sayılarının değişmesiyle beraber çok daha fazla enerji kapasitesi değerlerine ulaşılabilir. Polatçı ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarında biyogaz elde etmek için kurulan yerel bir tesisin aylık ortalama biyogaz enerjisi değerinin 1.58-5.85 MW arasında değiştiğini belirlemişlerdir [24]. Alibaş ve arkadaşlarının Diyarbakır ili'ne ait 2010-2014 yılları arasındaki hayvan sayılarına göre belirledikleri yıllık ortalama biyogaz miktarından elde edilebilecek elektrik enerjisi değerinin 96.05 GWh olduğunu ifade etmişlerdir [25]. Doruk ve Bozdeveci'nin yaptıkları çalışmalarında Denizli ili'n de bulunan hayvansal kaynaklı atıklardan yıllık ortalama 329 milyon kWh elektrik enerjisi elde edilebileceğini tespit etmişlerdir [23]. Taşova'nın yaptığı çalışmada, küçükbaş hayvanlarından elde edilebilecek ısı ve elektrik enerjisi değerlerini sırasıyla; 147 GJ/m³.yıl ve 31772 kWh/yıl olarak çalışmasında belirlemiştir [21].

Sonuç ve Öneriler

Yozgat ili'ne ait 2013-2017 yılları arasındaki hayvan sayısı değerlerine göre;

- 1) Kuru madde ve biyogaz potansiyel miktarlarının en fazla olduğu yıl 2013 ve en az olduğu yıl ise 2016 olduğu belirlenmiştir.
- 2) Biyogaz potansiyel miktarından elde edilebilecek ısı enerjisi potansiyel değeri en fazla 2013 yılındayken, en az ise 2016 yılında olduğu belirlenmiştir.
- 3) Elektrik enerjisi potansiyel değerleri açısından ise sırasıyla en fazla ve en az olduğu yıllar 2015 ve 2016 yılları olduğu belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında yapılacak öneri olarak ise; Yozgat ili'ne ait yıllık ortalama elektrik enerjisi tüketim miktarının 600-700 bin kWh olduğu bir durumda, yapılan bu çalışmada hayvansal atıklardan elde edilebilecek yıllık ortalama 60 bin kWh'lik elektrik enerjisi değerinin önemli olduğu düşünülmektedir. Hayvansal atıklardan kazanılabilecek enerji değerinin, Yozgat ili için yıllık elektrik enerjisi tüketim miktarının ortalama % 10'luk kısmını karşılayabilmesi açısından da ayrı bir önem kazanmaktadır. Yozgat ili'nde bulunan hayvan sayılarında sonraki yıllarda gözlemlenecek herhangi bir değişim durumunda hesaplanan bu teorik değerlerinde değişeceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Kaynaklar

- 1 Koç E, Kaya K (2015). Enerji Kaynakları–Yenilenebilir Enerji Durumu. Mühendis ve Makine Dergisi. 56 (688). 36-47.

- 2 Anonim (2011). Türkiye'de Biyogaz Yatırımları İçin Geçerli Koşulların ve Potansiyelin Değerlendirilmesi. Türk-Alman Biyogaz Projesi. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı. Ankara. (Erişim Tarihi: 15.03.2018).
- 3 Aybek A, Üçok S, İspir MA, Bilgili ME (2015). Türkiye'de Kullanılabilir Hayvansal Gübre ve Tahıl Sap Atıklarının Biyogaz ve Enerji Potansiyelinin Belirlenerek Sayısal Haritalarının Oluşturulması. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 12(03).
- 4 Türe S, Özdoğan S, Saygın Ö (1994). Sixth energy congress of Turkey. World Energy Council-Turkish National Committee, Proceedings of Technical Session 1, İzmir.
- 5 Demirbaş A (2001). Energy balance, energy sources, energy policy, future developments and energy investments in Turkey. Energy Conservation and Management, 42, 10, 1239-1258.
- 6 Onurbaş Avcıoğlu A, Türker U (2012). Status and potential of biogas energy from animal wastes in Turkey. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16, 1557-1561.
- 7 Yürük F, Erdoğan P (2015). Düzce İlinin Hayvansal Atıklardan Üretilebilecek Biyogaz Potansiyeli ve K-Means Kümeleme İle Optimum Tesis Konumunun Belirlenmesi. İleri Teknoloji Bilimleri Dergisi 4 (1), 47-56.
- 8 Karaca C (2017). Hatay İlinin Hayvansal Gübre Kaynağından Üretilen Biyogaz Potansiyelinin Belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(1), 34-39.
- 9 Sümer SK, Çiçek G, Say SM (2016). Çanakkale İlinde Zeytin Üretimi Artık Potansiyelinin Belirlenmesi ve Değerlendirme Olanaklarının Araştırılması. Tarım Makinaları Bilimi Dergisi, 12 (2), 103-111.
- 10 Külcü R (2016). Afyonkarahisar İlinin Tarımsal Biyokütle Potansiyelinin İncelenmesi. Akademia Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi. 1 (2). 1-9.
- 11 Anonim (2018a). Coğrafya Eğitimi. <https://www.cografyaegitimi.biz/tags/yozyat/> (Erişim Tarihi: 11.10.2018).
- 12 Anonim (2018b). Yozgat il. [https://tr.wikipedia.org/wiki/Yozgat_\(il\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Yozgat_(il)) (Erişim Tarihi: 11.10.2018).
- 13 Anonim (2018c). Gebze Akçay Kırtasiye Kitap. <https://akcaykirtasiye.tr.gg/> (Erişim Tarihi: 11.10.2018).
- 14 Yozgat İl Tarım Müdürlüğü (2009). Yozgat Tarım Hayvancılık Ve Gıda Sektörel Çalışma Grubu Raporu. <http://oran.org.tr> (Erişim Tarihi: 16.10.2018).
- 15 Türkiye İstatistik Kurumu (2017). http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim Tarihi: 16.10.2018).
- 16 Akbulut A, Dikici A (2004). Elazığ İlinin Biyogaz Potansiyeli ve Maliyet Analizi. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi, 2 (2), 36-41.
- 17 Gürel A (2010). Tekirdağ İlinin Keşfedilmeyen Değerlerinden Biyogaz Potansiyeli. Tekirdağ Değerleri Sempozyumu, ISBN: 9786054265121, 60-69.
- 18 Baran MF, Lüle F, Gökdoğan O (2017). Adıyaman İlinin Hayvansal Atıklardan Elde Edilebilecek Enerji Potansiyeli. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 4 (3), 245-249.
- 19 Altıkat S, Çelik A (2012). Iğdır İlinin Hayvansal Atık Kaynaklı Biyogaz Potansiyeli. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2(1), 61-66.
- 20 Taşova M (2017). Kümes Hayvanları Atıklarının Biyogaz Üretim Potansiyelinin Belirlenmesi: Tokat İli Örneği. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10 (2): 287-294.
- 21 Taşova M (2018). Yerel Bir Küçükbaş Hayvancılık İşletmesi'nin Biyogaz Potansiyelinin Belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5 (3): 268 – 272.
- 22 Tınmaz Köse E (2016). Trakya bölgesinde hayvan gübrelerinin biyogaz enerji potansiyelinin belirlenmesi ve sayısal haritaların oluşturulması. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 23(6): 762-772.
- 23 Doruk İ, Bozdeveci A (2017). Denizli İlinin Kırsal Kesimlerinde Hayvansal Kaynaklı Atıklardan Biyogaz Potansiyelinin Belirlenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7 (3), 181-186.
- 24 Polatçı H, Taşova M, Kasap A, Yüksel M (2016). Biogas Production Potential of Solid Wastes: A Research Experience. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, 9(1): 48-50.
- 25 Alibaş İ, Özsoy G, Eliçin AK (2015). Diyarbakır İli Tarımsal Kaynaklı Biyogaz Potansiyelinin Belirlenmesi. Tarım Makineleri Dergisi, 11 (1), 75-87.

Transposon Studies on *Colchicum chalcedonicum*

Elif Karlık*^{1,2}, Merve Albayrak³, Erdal Uzen⁴, Nermin Gozukirmizi^{2,5}

ABSTRACT

Colchicum chalcedonicum is one of the endemic plants in Turkey. The aim of this study was the investigation of the retrotransposon *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* presence and insertion patterns in *C. chalcedonicum*. The plant samples were collected from the botanic garden of the Istanbul University. DNA isolation was performed from leaves by using modified CTAB/SEVAG protocol. Retrotransposon movements were investigated using *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* primers by Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism PCR technique (IRAP-PCR). Polymorphism percentages (%) were calculated based on Jaccard Similarity Index. We observed that polymorphism ratios of *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* retrotransposons among all samples were 0-40%, 0-100% and 0-60%, respectively. This is the first report to demonstrate three barley — *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita*— retrotransposons presence and movements in *C. chalcedonicum* which is belonged to *Colchicum* family, thus these IRAP primers may be used in further characterization and diversity studies of *Colchicum* family.

ARTICLE HISTORY

Received

19 February 2019

Accepted

26 March 2019

KEYWORDS

*Colchicum
chalcedonicum*,
Retrotransposons,
SIRE1, *Sukkula*, *Nikita*

Introduction

Ecology of Turkey is very favourable for rich flora, because of its geographical location, topographic features, environmental and climate convenience at the cross section of three phytogeographic regions. Approximately 900 geophyte taxa (bulbs, tubers and rhizomes plants) grow naturally in Turkey [1]. Geophytes mostly consist of Araceae, Liliaceae, Primulaceae, Iridaceae, Geraniaceae, Orchidaceae, Ranunculaceae, Amaryllidaceae families that some of them have medical and economical properties [2-4]. *Colchicum* family, which is belonged to Liliaceae, are presented as 39 species in Turkey that one of the endemic species of *Colchicum* is *Colchicum chalcedonicum* which is native to Asia, Europe and Africa. *C. chalcedonicum*, which is also called as Kadikoy (Chalcedon) crocus, was first collected by Aznavour [5]. *C.*

¹ The University of Istanbul, Institution of Graduate Studies in Science and Engineering, Department of Biotechnology, Istanbul/Turkey

² The University of Istinye, Faculty of Arts and Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul/Turkey,

³ The University of Gebze Technical University, Institution of Natural and Applied Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Kocaeli/Turkey

⁴ The University of Istanbul, Faculty of Science, Department of Biology, Istanbul/Turkey

⁵ The University of Istanbul, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul/Turkey

*Corresponding author: Elif Karlık, elif.karlik@istinye.edu.tr

chalcedonicum has usually 4 leaves, long-oval shapes corms under the soil, its chromosome number is $2n=50$, and grows dry stones and rocky places [6-8].

Eukaryotic genomes comprise an abundance of repeated DNA which can move from one location of the genome to another, are also defined as transposable elements (TEs) can move within or between genomes [9]. More than 50 years ago, TEs were first identified by geneticist Barbara McClintock [10]. Nowadays, it is known that transposons are found in almost all organisms. Different types of TEs have been described that important difference between TE types is the presence of the reverse transcriptase (i.e. the transcription of RNA into DNA). Therefore, TEs are categorized into two groups based on their transposition mechanism and structural features: the retrotransposons (class I) and the DNA transposons (class II) [9].

Plants mostly contain retrotransposons more than 80% of in their genomes such as maize, wheat and barley [11, 12]. Retrotransposons use RNA to move new chromosomal locations that this mechanism is also called as “copy and paste” mechanism. Additionally, retrotransposons are subdivided into two groups; (1) long terminal repeats (LTR) retrotransposons, and (2) non-LTR retrotransposons. These repeats have a role in the insertion of the TEs which are also defined as “footprints” when the TEs are excised [13]. During speciation and evolution, TEs enlarged a large percentage of genome volume as demonstrated in plants [14], *Drosophila* or primates [15-17]. Due to the transposition event such as insertions, excisions, duplications or translocations, TEs can produce genetic variations [18-22]. Some studies showed that DNA transposons can alter the expression by insertion of specific regions in the genome such as introns, exons or regulatory elements. Moreover, TEs can be reorganized the genome by the mobilization of non-transposon DNA. In addition, TEs act as recombination substrates trigger recombination between two sequences of a transposon placed in the same or different chromosomes, which could be the origin for several types of chromosome alterations. Hence, TEs can be resulted in the loss of genomic DNA by internal deletions [23-25].

SIRE1 is plant specific LTR retrotransposon belonging to the sirevirus class of the *Ty1-Copia* retrotransposon family have their own genome structure among LTR retrotransposons according to possessing a putative *envelope-like (ENV-like)* gene immediately downstream of the reverse transcriptase gene [13]. Each copy of *SIRE1* is appx. 11 kb, making *SIRE1* one of the largest retroelement in soybean, additionally, *SIRE1* is active in the other plant species such as barley [26, 27]. Another LTR retrotransposon, which was first identified in barley by Shirasu, is *Sukkula* retroelement is approximately 5 kb, containing reverse transcriptase in appx. 3.5 kb central domain which is found to be conserved as in primary sequence and secondary structure.

However, *Sukkula* includes no open reading frames (ORFs) encoding typical retroelement proteins. According to these features of *Sukkula*, a novel group of retrotransposons, *large retrotransposon derivatives* or LARDs, have been described that they are member of the *gypsy* class of LTR retrotransposons, are similar to TRIMs (Terminal-repeat Retrotransposons in Miniature) in their lack of a protein-coding domain [28]. *Nikita* was the 4th TE reported in barley has been used to determine polymorphism in polyploids, genetic variability, comparison of different retrotransposon-based marker techniques and hybrids [29-33]. For genome diversification in plants, active retrotransposons are mostly considered as major contributors because of their transposition and accumulation potentials in the genome [34-36].

Molecular marker techniques have become an important tool in molecular plant breeding [37]. Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) is a molecular marker technique based on retrotransposon movements. Currently IRAP molecular markers are widely used to investigate polymorphism among individuals, species identification and environmental effects on individual's genetic diversity in plants. Retrotransposons integrate a daughter copy, which causes new joints between genomic DNA and the conserved LTRs; therefore, they can be used as markers. IRAP PCR neither requires restriction enzyme digestion or ligation to produce the marker bands is based on polymerase chain reaction amplification [38]. IRAP PCR technique determines retrotransposon insertional polymorphisms by amplifying the portion of DNA between two retroelements. One or two primers pointing outwards from an LTR are used, thus IRAP PCR amplifies the tract of DNA between two nearby retrotransposons. The result of IRAP PCR products are called as 'the fingerprints', from amplification of hundreds to thousands of target sites in the genome [37, 38].

The aim of this study was to identify well-studied plant LTR-retrotransposons, including *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* in *C. chalconicum*. For this purpose, *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* insertion patterns were investigated using IRAP analysis method and results were analysed by Jaccard Similarity Index technique. This is the first report to demonstrate *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* retrotransposons insertion patterns in *C. chalconicum*.

Materials and Methods

Plant material

C. chalconicum leaves used in this study were kindly provided from Erdal Uzen and the specimen was deposited in the Botanic Garden of Istanbul University.

DNA extraction

Genomic DNA extraction was performed with some modifications using CTAB/SEVAG protocol. A total amount of 100 mg of each sample were homogenized by grinding in liquid nitrogen. For total DNA extraction, 100 mg grounded samples were incubated with 500 ml CTAB buffer solution at 65°C for 1 h. Then, the samples were centrifuged for 15 min at 16,000 x g. Afterwards, the aqueous phase was transferred to fresh tubes by pipette, then 200 µl proteinase K (25 mg/ml) and 5 µl RNase A solution (10 mg/ml) were added and incubated at 65 °C for 30 min. Next, the samples were centrifuged for 10 min at 16,000 x g. The supernatants were transferred to fresh tubes including equal volume of SEVAG (phenol:chloroform:isoamyl alcohol, 25:24:1), the samples were mixed and centrifuged for 10 min at 16000 x g. ~500 ml of aqueous phase was transferred to fresh tubes which consisted of equal volume of chloroform. Afterwards, the samples were centrifuged for 10 min at 16000 x g. The aqueous phase of samples was mixed with 2 volumes of CTAB precipitation solution and incubated at room temperature for an hour. Following centrifugation was carried out for 5 min at 16000 x g. The pellet of the samples was dissolved in 350 ml 1.2 M NaCl solution, then 350 ml chloroform were added and centrifuged for 10 min at 16000 x g. The aqueous phase was transferred to tubes containing 0.6 volumes of isopropanol and incubated at -20°C for 30 min. The samples were centrifuged for 10 min at 16000 x g. Afterwards, the pellets were washed with 70% ethanol and dissolved in 30 ml of sterile dH₂O. Degradation of the isolated DNA was assessed by using 1% agarose gel electrophoresis. Spectrophotometric analysis of the DNA quantity and quality were measured at 230, 260 and 280nm by NanoDrop 2000c UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, 2000c) For IRAP analysis, the DNA's concentrations were equalized to 20 ng/µL.

IRAP PCR analysis

SIRE1, *Sukkula* and *Nikita* insertion patterns were investigated using modified IRAP-analysis. The primer sequences used in this study was shown in Table 1. *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* IRAP-PCR analysis were carried out using a thermal cycler in a total volume of 20 µL, containing 4 µL of sterile dH₂O, 2 µL of primer (1 µM/µL), 4 µL of 20 ng/µL template genomic DNA (80 ng/µl) and 10 µL of 2X Illustra™ Hot Start Master Mix (GE Healthcare, Sigma). The values given in parentheses were the final concentrations. PCR conditions were as follows: initial denaturation at 94°C (3 min), followed by 40 cycles of denaturation at 94°C (30 s), annealing at 57°C for *SIRE1*, at 55°C for *Sukkula* and at 51°C for *Nikita* (30 s) and extension at 72°C (3 min). The reaction was completed by additional extension at 72°C for 10 min.

Table 1 List of primers used in this study.

No	Primer Name	Sequence (5'→3')	References
1	<i>SIRE1</i>	GCAGTTATGCAAGTGGGATCAGC	[38]
2	<i>Nikita</i>	CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC	[40]
3	<i>Bagy2</i> F	CTCGCTCGCCCACTACATCAACCGCGTTTATT	[41]
4	<i>Bagy2</i> R	ATCATTCCCTCTAGGGCATAATTC	[41]

Evaluation of polymorphism results

The percentages of polymorphism (%) were calculated using Jaccard similarity index [42]. In brief, bands result of IRAP PCR were scored as a binary value: '1' for presence and '0' for absence; the binary matrix (1/0) was then utilized to calculate the similarity between the different individuals using Jaccard's similarity index. Moreover, band profiles were also analysed by GelJ v.2.0 to construct the phylogenetic tree, UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) clustering method with Jaccard's Similarity Index was utilized to cluster the subjects according to band distances on gel images [43].

Results

Retrotransposons —*SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita*— movements in *C. chalconicum* have been analysed using IRAP-PCR technique. IRAP-PCR results were electrophoretically separated in a 2% agarose gel (see Fig 1). *SIRE1* and *Sukkula* IRAP band profiles were ranged from 100 to 400 bp. However, IRAP band profiles of *Nikita* were ranged from to 300 to 2000 bp.

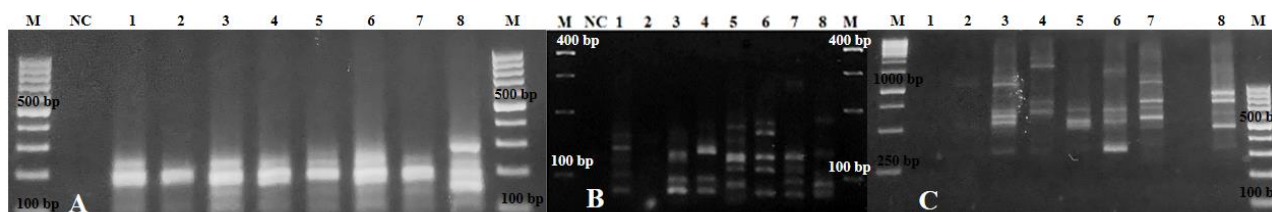


Fig 1 Demonstration of IRAP PCR products separated in 2% agarose gel. **A:** *SIRE1* results. **B:** *Sukkula* results. **C:** *Nikita* results. M: 100 bp marker and 1 kb marker. NC: no template control. 1-8: PCR products obtained from leaves of individual seedlings

The resulting IRAP-PCR amplification products demonstrated that polymorphism ratios of *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* retrotransposons among all samples were 0-40%, 0-100% and 0-60%, respectively (see Table 2 and 3).

Table 2 Polymorphism percentages (%) of *SIRE1* and *Sukkula*. **A:** *SIRE1*; **B:** *Sukkula*

A	1	2	3	4	5	6	7	8	B	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-								1	-							
2	25	-							2	100	-						
3	17	0	-						3	10	10	-					
4	0	0	0	-					4	22	22	11	-				
5	0	0	0	17	-				5	0	0	10	22	-			
6	0	20	0	40	14	-			6	0	0	33	9	8	-		
7	0	0	0	17	0	14	-		7	0	0	9	9	18	17	-	
8	14	0	29	0	0	0	0	-	8	9	9	0	22	20	8	18	-

Table 3 Polymorphism percentages (%) of *Nikita*

C	3	4	5	6	7	8
3	-					
4	25	-				
5	14	0	-			
6	25	0	60	-		
7	0	10	0	0	-	
8	9	0	0	0	8	-

As a result of GelJ analysis, two main clusters have been observed for all retrotransposons—*SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita*— used in this study. For *SIRE1* clustering based on UPGMA dendrogram, first group consisted of 4 subjects (No: 3, 4, 5 and 10), and second group contained the other four—6, 7, 8 and 9— subjects. However, first cluster of *Sukkula* only comprised two subjects 3 and 4; the other 6 subjects were found in the second cluster. Additionally, clustering of *Nikita* was only resulted in 6 subjects thus, first cluster contained 4 subjects (No: 4, 5, 6 and 7) and the 2nd group consisted of 2 subjects (No: 8 and 10) (see Fig 2).

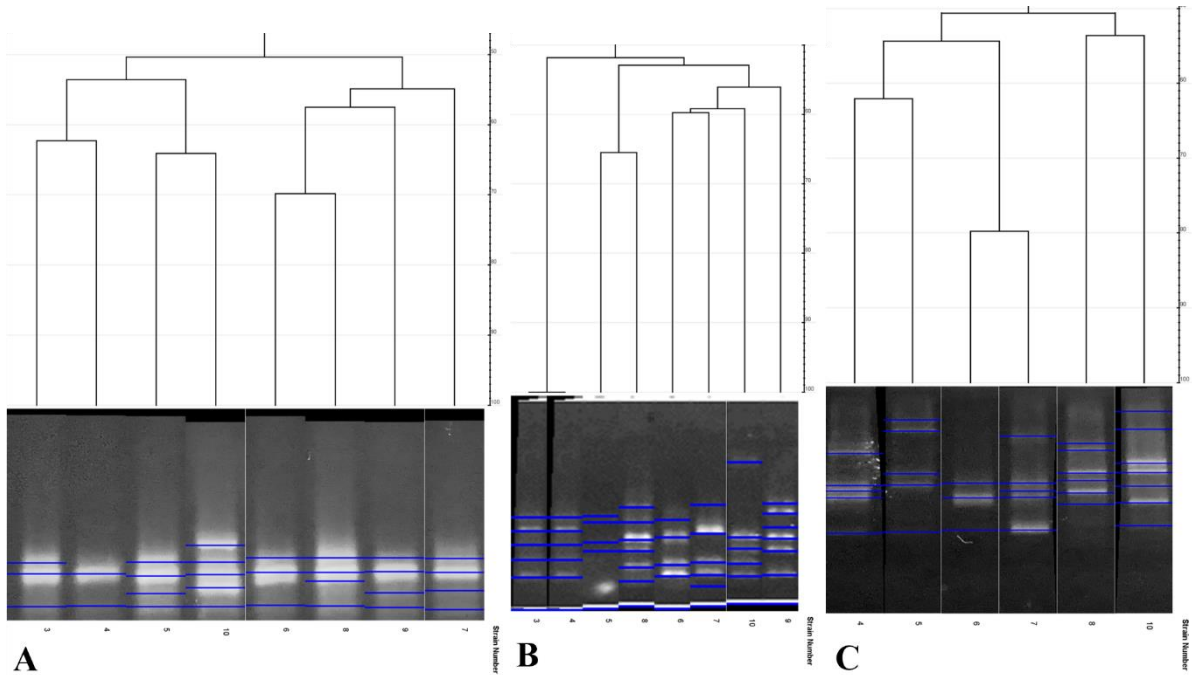


Fig 2 Clustering of subjects based on IRAP PCR amplification using *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* specific primers (GelJ v.2.0 analysis). **A:** *SIRE1* clustering. **B:** *Sukkula* clustering. **C:** *Nikita* clustering. 1-8: PCR products obtained from leaves of individual seedlings

Discussion

Transposable elements are widespread and dynamic elements of the genome, especially, they consist of the 80% of the genome in cereals [44]. According to their transposition mechanism, TEs can alter gene products and gene expression profiles [45]. In addition, TEs have considered as an important motive for genome evolution and speciation due to their dynamic feature [30]. Retrotransposons are usually utilized to determine genetic relationships between varieties and related species based on their variation capacity between species [46-48]. The aim of this study was to determine the presence and insertion patterns of the *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* retrotransposons in *C. calcedonicum*. Polymorphism percentages (%) were calculated as 0-40%, 0-100% and 0-60% for *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita*, respectively, according to IRAP PCR results due to Jaccard Similarity Index. Two main clusters have been observed for all three retrotransposon types. — *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita*—

Several plant species, which are widespread and endemic, are placed in Anatolia is the richest regions in Turkey [49]. Moreover, Turkey has the extensive distribution of *Colchicum* family consist of 39 species that 15 of them endemic [50-52]. However, chromosome number was only reported associated with *C. calcedonicum* genome. Our study is the first report demonstrating

TE presence and insertion patterns in *C. chalconicum* genome. TEs are widespread in the plant kingdom, thus they participate of several common features, both structural and mechanistic, with mobile elements from other eukaryotes [53]. We observed that IRAP primers of *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita* retrotransposons were studied in *C. chalconicum* genome, indicating that these retrotransposons were presence and active in *C. chalconicum*. Moreover, genetically active TEs could be distinguished through genome [54, 55].

Numerous studies have reported the number, diversity, and distribution of transposable elements within plant genomes [56-59]. *SIRE1*, which is a family of *copia/Ty1*-related retrotransposons in the soybean genome, is most closely related to *opie-2* from maize. Both *Glycine max* and *Glycine soja* comprise of *SIRE1* elements, suggesting this retrotransposon family was present before soybean domestication [60]. However, our studies demonstrated that *SIRE1* is still active in soybean, indicating this family may proceed to be proliferated in the soybean genome (unpublished data). *SIRE1* retrotransposon family was also studied in barley and human genomes by Cakmak et al. [27; unpublished data]. In barley, Cakmak et al. [27] have found polymorphism rates between 0–64% among all samples. Also, polymorphism percentages (%) were observed as 0-40% in our study for *SIRE1* IRAP primer. Our results indicated that *SIRE1* IRAP primer is suitable for further characterization and diversity studies.

Several studies have been performed for genetic characterization and diversity analysis using *Sukkula* retrotransposon [61-63]. However, *Sukkula*, which means “shuttle” in Finnish, have been reported the 2nd most active retrotransposon in the barley genome [29]. Moreover, *Sukkula* have been proposed to be associated with intraspecies variations by Kartal-Alacam et al. [63], which demonstrated the polymorphism rates up to 61% and 70% using IRAP, and iPBS, respectively. Moreover, *Sukkula* movements have been observed in human that polymorphism percentages (%) were found to be 8–100% among all samples; 10–91% in 12 female subjects and 13–100% in 12 male subjects [64]. In our study, we observed 0-100% polymorphism rate, suggesting that *Sukkula* retrotransposon is favourable to perform *Colchicum* characterization and diversity studies.

Although *Nikita* retrotransposon have been reported as the fourth most active retrotransposon in barley [29], studies associated with *Nikita* is quite limited. Bayram et al. [65] have only observed some polymorphic bands (~550 and 650 bp) in callus culture, indicating that tissue culture conditions may be responsible for the movement of the *Nikita*. Additionally, *Sukkula* and *Nikita* IRAP primer transferability have been demonstrated in *Pimpinella anisum* L. by Marakli [66]. Interestingly, polymorphism rate of *Nikita* in this study was calculated as 0-60%,

suggesting that *Nikita* IRAP primer may also be used in further characterization and diversity studies.

Conclusion

C. calcedonicum is an endemic and valuable plant for Turkey. Comparison of three IRAP primers — *SIRE1*, *Sukkula* and *Nikita*— used in this study demonstrated that *Sukkula* IRAP primer is favourable for *Colchicum* family according to polymorphism range of molecular marker technique.

Acknowledgments

This study was supported by Kadıköy Municipality. Also, the authors thank Meltem Deger for sharing results and studies on *Colchicum* species.

References

1. Koyuncu, M. and Ş. Alp, New geophyte taxa described from Turkey at last decade. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agriculture Science*, 2014. 24 (1): p. 101-110.
2. Baytop, T., *Therapy with plant in Turkey*, İstanbul University Publication. 1984, İstanbul.
3. Sargın, A.S., S. Selvi, and E. Akçiçek, Investigations of ethnobotanical aspect of some geophytes growing in Alaşehir (Manisa) and surrounding area, *Erciyes University Journal of Institute of Science and Technology*, 2013. 29(2): p. 170-177.
4. Atak, A., E. Kaya, and K. Erken, Determination of quantity and purity of some geophytes collected from the flora of Turkey, *Asian Journal of Plant Sciences*, 2014. 13(3): p. 98-110.
5. Aznavour, G.Y., Note sur la flore des environs de Constantinople. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 1987. 44: p. 164-177.
6. Brickell, C.D., *Colchicum* L, In: Davis PH (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 8, University Press, 1984. Edinburgh.
7. Küçüker, O., The morphological, anatomical and cytological studies on some *Colchicum* species of İstanbul area. *Journal of Science İstanbul University*, 1985. 50(B): p. 87-111.
8. Persson, K., Nomenclatural synopsis of the genus *Colchicum* (*Colchicaceae*), with some new species and combinations. *Botanische Jahrbücher für Systematik*, 2007. 127: p. 165–242.
9. Pray, L., Transposons: The jumping genes. *Nature Education*, 2008. 1(1): p. 204.
10. McClintock, B., The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1950. 36(6): p. 344-355.
11. Liu, R., et al., A GeneTrek analysis of the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007. 104: p. 11844–11849.
12. Wicker, T., et al., A whole-genome snapshot of 454 sequences exposes the composition of the barley genome and provides evidence for parallel evolution of genome size in wheat and barley. *Plant Journal*, 2009. 59: p. 712–722.
13. Gao, X., et al., Translational recoding signals between gag and pol in diverse LTR retrotransposons. *RNA*, 2003. 9(12): p. 1422–1430.
14. SanMiguel, P., et al., The paleontology of intergene retrotransposons of maize. *Nature Genetics*, 1998. 20(1): p. 43–45.
15. Sheen, F.M., and R.W., Levis, Transposition of the LINE-like retrotransposon TART to *Drosophila* chromosome termini. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994. 91: p. 12510–12514.

16. Frazer, K.A., et al., Genomic DNA insertions and deletions occur frequently between humans and nonhuman primates. *Genome Research*, 2003. 13(3): p. 341–346.
17. Locke, D.P., et al., Large-scale variation among human and great ape genomes determined by array comparative genomic hybridization. *Genome Research*, 2003. 13(3): p. 347–357.
18. Jordan, E., H. Saedler, and P. Starlinger, O⁰ and strong-polar mutations in the gal operon are insertions. *Molecular and General Genetics*, 1968. 102(4): p. 353–363.
19. Rubin, G.M., M.G. Kidwell, and P.M. Bingham, The molecular basis of P-M hybrid dysgenesis: the nature of induced mutations. *Cell*, 1982. 29(3): p. 987–994.
20. Kazazian, H.H., et al., Haemophilia a resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature*, 1988. 332(6160): p. 164–166.
21. Clegg, M.T, and M.L. Durbin, Tracing floral adaptations from ecology to molecules. *Nature Reviews Genetics*, 2003. 4(3): p. 206–215.
22. Lerman, D.N, and M.E. Feder, Naturally occurring transposable elements disrupt hsp70 promoter function in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology and Evolution*, 2005. 22(3): p. 776–783.
23. Kidwell, M.G, and D.R. Lisch, Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. *Evolution*, 2001. 55(1): p. 1–24.
24. Kazazian, H.H., Mobile elements: drivers of genome evolution. *Science*, 2004. 303(5664), p. 1626-1632.
25. Feschotte, C, and E.J. Pritham, DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annual Review of Genetics*, 2007. 41: p. 331-368.
26. Laten, H.M, and R.O. Morris, SIRE1, a long interspersed repetitive DNA element from soybean with weak sequence similarity to retrotransposons: initial characterization and partial sequence. *Gene*, 1993. 134(2): p. 153-159.
27. Çakmak, B., S. Marakli, and N. Gözükmirmizi, SIRE1 Retrotransposons in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Russian Journal of Genetics*, 2015. 51(7): p.661-672.
28. Kalendar, R., et al., Large Retrotransposon Derivatives: Abundant, Conserved but Nonautonomous Retroelements of Barley and Related Genomes. *Genetics*, 2004. 166: p.1437-1450.
29. Leigh, F., et al., Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques. *Molecular Genetics and Genomics*, 2003. 269: p. 464–474.
30. Bento, M., et al., Polyploidization as a retraction force in plant genome evolution: sequence rearrangements in *Triticale*. *PLoS One*, 2008. 3: p. e1402.
31. Bento, M., et al., Genome merger: from sequence rearrangements in *Triticale* to their elimination in wheat–rye addition lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010. 121: p. 489-497.
32. Carvalho, A., et al., Genetic variability of Old Portuguese bread wheat cultivars assayed by IRAP and REMAP markers. *Annals of Applied Biology*, 2010. 156: p. 337-345.
33. Patel, D., et al., Somatic hybrid plants of *Nicotiana X sanderae* (+) *N. debneyi* with fungal resistance to *Peronospora tabacina*. *Annals of Botany-London*, 2011. 108: p. 809-819.
34. Wessler, S.R., T.E. Bureau, and S.E. White, LTRretrotransposons and MITEs: important players in the evolution of plant genomes. *Current Opinion in Genetics and Development*, 1995. 5(6): p. 814-821.
35. Vicent, C.M., et al., Retrotransposon BARE-1 and Its Role in Genome Evolution in the Genus *Hordeum*. *Plant Cell*, 1999. 11: p. 1769-1784.
36. Schulman, A.H, and R. Kalendar, A movable feast: diverse retrotransposons and their contribution to barley genome Dynamics. *Cytogenetic and Genome Research*, 2005. 110: p. 598-605.
37. Kalendar, R, and A.H. Schulman, IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*, 2006. 1(5): p. 2478-2484.
38. Kalendar, R, and A.H. Schulman, Transposon based tagging: IRAP, REMAP, and iPBS. *Methods in Molecular Biology*, 2014. 1115: p. 233-255.
39. Chesnay, C., A. Kumar, and S.R. Pearce, Genetic diversity of SIRE1 retroelements in annual and perennial glycine species revealed using SSAP. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2007. 12: p. 103-110.
40. Rodriguez, M., et al., Integration of Retrotransposons-Based Markers in a Linkage Map of Barley, *Molecular Breeding*, 2006. 17: p. 173-184.
41. Zein, I., M. Jawhar, and M.I.E. Arabi, Efficiency of IRAP and ITS-RFLP marker systems in accessing genetic variation of *Pyrenophora graminea*. *Genetics and Molecular Biology*, 2010. 33(2): p. 328-332.

42. Jaccard, P., Nouvelles recherches sur la distribution florale [New research on floral distribution]. Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles, 1908. 44: p. 223–270.
43. Heras, J., et al., GelJ- a tool for analyzing DNA fingerprint gel images. BioMed Central Bioinformatics, 2015. 16: p. 270.
44. Mascher, M., et al., A chromosome conformation capture ordered sequence of the barley genome. Nature, 2017. 544: p. 427–433.
45. Fedoroff, N, Transposons and genome evolution in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000. 97(13): p. 7002-7007.
46. Baumel, A., et al., Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* C.E. Hubbard (*Poaceae*). Molecular Biology and Evolution, 2002. 19(8): p. 1218-1227.
47. Alavi-Kia, S.S., et al., Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships in *Crocus* genus of Iran using Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2008. 22: p. 795-800.
48. Belyayev, A., et al., Transposable elements in a marginal plant population: temporal fluctuations provide new insights into genome evolution of wild diploid wheat. Mobile DNA, 2010. 1: p. 1-16.
49. Giray, B, Türkiye'deki Doğal Çiçek Soğanları ile ilgili Gelişmeler. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dergisi. 139. 2001. Ankara.
50. Dahlgren, R.M.T., H.T. Clifford, and P.F. Yeo, The Families of the Monocotyledons -Structure, Evolution and Taxonomy. 1985. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: New York.
51. Persson, K, The Genus *Colchicum* in Turkey I. New Species. Edinburgh Journal of Botany, 1999. 56(1): p. 85-102.
52. Akan, H, and I. Eker, Check-list of the genus *Colchicum* in the flora of Turkey. Turkish Journal of Botany, 2005. 29: p. 327-331.
53. Flavell, A.J., S.R. Pearce, and A. Kumar, Plant transposable elements and the genome. Current Opinion in Genetics and Development, 1994. 4(6): p. 838–844.
54. Fedoroff, N.V., D.B. Furtek, and O.E. Nelson Jr., (1984) Cloning of the bronze locus in maize by a simple generalizable procedure using the transposable controlling element *Activator* (*Ac*). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1984. 81: p. 3825-3829.
55. Banks, J.A, and N. Fedoroff, Patterns of developmental and heritable change in methylation of the Suppressor-mutator transposable element. Developmental Genetics, 1989. 10: p. 425-437.
56. Kumar, A, and J.L. Bennetzen, Plant retrotransposons. Annual Review of Genetics, 1999. 33: p. 479-532.
57. Feschotte, C., N. Jiang, and S.R. Wessler, Plant transposable elements: Where genetics meets genomics. Nature, 2002. 3: p. 329-341.
58. Deininger, P.L., et al., Mobile elements and mammalian genome evolution. Current Opinion in Genetics and Development, 2003. 13: p. 651-658.
59. Havecker, E.R., X. Gao, and D.F. Voytas, The diversity of LTR retrotransposons. Genome Biology, 2004. 5: p. 225.
60. Hymowitz, T, and C.A. Newell, Taxonomy of the genus *Glycine*: domestication and uses of soybeans. Economic Botany, 1981. 35: p. 272-288.
61. Carvalho, A., H. Guedes-Pinto, and J.E. Lima-Brito, Genetic diversity in old Portuguese durum wheat cultivars assessed by retrotransposon-based markers. Plant Molecular Biology Reporter, 2012. 30: p. 578–589.
62. Nasri, S., et al., Retrotransposon insertional polymorphism in Iranian bread wheat cultivars and breeding lines revealed by IRAP and REMAP markers. Biochemical Genetics, 2013. 51: p. 927–943.
63. Kartal-Alacam, G., et al., Sukkula retrotransposon insertion polymorphism in barley. Russian Journal of Plant Physiology, 2014. 61: p. 828–833.
64. Cakmak, B., S. Marakli, and N. Gozukirmizi, Sukkula retrotransposon movements in the human genome. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2017. 31(5): p. 900-905.
65. Bayram, E., et al., *Nikita* Retrotransposon Movements in Callus Cultures of Barley (*Hordeum vulgare* L.). Plantomics, 2012. 5: p. 211-215.
66. Marakli, S, Transferability of Barley Retrotransposons (*Sukkula* and *Nikita*) to Investigate Genetic Structure of *Pimpinella anisum* L. Marmara Fen Bilimleri Dergisi, 2018. 30: p. 299-304.

Anadolu Coğrafyasında Yayılış Gösteren *Berberis* Türleri ve Geleneksel Kullanımı

Sahane Funda Arslanoglu¹, Omer Faruk Ayna^{1*}

ÖZET

Çok yıllık otsu veya çalı formunda, 12 cins ve 200 tür ile temsil edilen *Berberidaceae* familyası, Kuzey yarım kürede dağılış göstermektedir. Türkiye’de *Berberis vulgaris*, *Berberis integerrima*, *Berberis crataegiana*, *Berberis cretica* olmak üzere dört türü bulunmaktadır. Türlerin ülkemizde dağılım alanları birbirinden farklılık göstermektedir. *Berberis* türleri odunsu kısımlarında bulunan ve sarı rengi veren berberin maddesi nedeniyle geleneksel kullanımda yün ve ipliğin boyanmasında kullanılmıştır. Fenolik bileşikler, alkaloidler, flavonidler bulunduran kök, kabuk, meyve ve yaprağı Anadolu’da, ateş düşürücü, soğuk algınlığı, romatizmal şikayetler, göz hastalıkları, sindirim ve solunum yolu şikayetlerini giderici, şeker düşürücü gibi amaçlar için kullanılmıştır. Olgunlaşan meyveleri reçel, marmelat, şurup yapımında ve kurutulularak çerez olarak tüketilmektedir. Derleme niteliğindeki bu makalede, *Berberis* türlerinin morfolojik özellikleri, etken maddeleri ve geleneksel kullanım alanları hakkında detaylı bilgi verilmiştir.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş 04 Nisan 2019
Kabul 27 Nisan 2019

ANAHTAR KELİMELELER

berberis, geleneksel kullanım, doğal boya, anadolu

The Types of *Berberis* Growing in Anatolian Geography and Traditional Uses

ABSTRACT

The *Berberidaceae* family, represented by 12 genera and 200 species in the form of perennial herbaceous or shrub, is distributed in the Northern hemisphere. There are four types in Turkey; *Berberis vulgaris*, *Berberis integerrima*, *Berberis crataegiana*, *Berberis cretica*. The distribution areas of the species in our country differ from each other. *Berberis* species are used for dyeing wool and yarn due to the berberine in its woody parts which gives the yellow color in traditional uses. The root, bark, fruit and leaves, which contain phenolic compounds, alkaloids, flavonoids are used for treatment of antipyretic, colds, rheumatic complaints, eye diseases, digestive and respiratory tract relievers and diabetes. The ripe berries are consumed as jam, marmalade, syrup and dried fruit as a snack. In this paper, the morphological characteristics of *Berberis* species, active ingredients, traditional uses in Anatolia are detail given.

ARTICLE HISTORY

Received
04 April 2019
Accepted
27 April 2019

KEY WORDS

berberis, traditional uses, natural dye, anatolia

Giriş

Berberidaceae familyası, çok yıllık otsu veya çalı formunda [1], odunsu kısımlarında sarı rengi veren “berberin” maddesi bulunan 12 cins ve 200 kadar tür bulundurmaktadır. Bu türlerin çoğu Kuzey yarım kürenin ılıman bölgelerinde yayılış göstermektedir. Ülkemizde, *Berberis* cinsi içerisinde *B. vulgaris*, *B. integerrima*, *B. crataegiana*, *B. cretica* türleri doğal olarak yetişmektedir [2].

¹ Samsun Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Samsun / Turkey

*Corresponding Author: Ömer Faruk Ayna, e-mail: omerfarukayna295657@gmail.com

Anavatanı Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya olan *Berberis vulgaris* L. türü [3], ülkemizde İstanbul, Kastamonu, Artvin, Samsun, Tokat yöresinde yayılış göstermektedir [4]. Genel olarak taşlı yamaçlar, orman içi boşluklar veya çalılıklar arasında 500-1500 m rakımlar arasında yetişen *B. vulgaris* [3,5], 2m boylanabilen, kışın yaprağını döken, kalın dallı, dikenli bir çalıdır. Dikenler genellikle üçlüdür ve yaprakları dikenlere göre daha büyüktür. Yaprak kenarları ince dişli, uzunlukları 3-8 cm arasındadır [6]. Sarı renkli genç gövdelerin kabuğu üzerinde siyah lentiseller bulunur [2]. Nisan-Mayıs aylarında açan çiçekler salkım şeklinde ve 15 ile 25 adet çiçeğin bir araya gelmesiyle oluşur. Olgunlaştığı zaman kırmızı renk olan meyveler, elips, 8-12 mm uzunlukta ve üzüksü yapıdadır [7].

Türkiye ve İran'da yayılış gösteren *Berberis crataegina* DC. türü [3], ülkemizde Kastamonu, Ankara, Antalya, Erzincan, Kayseri, Konya, Kütahya, Malatya, Niğde, Şanlıurfa, Yozgat yöresinde görülmektedir [4]. Genel olarak kurak ve kayalık yamaçlarda [3] 800-1500 m rakımlar arasında yetişir. Bitki boyu 2m ulaşan, kışın yaprağını döken [6], dikenli bir çalıdır. *B. vulgaris* türünde olduğu gibi yapraklar dikenlerden daha büyüktür. Yaprak kenarları kaba dişli, uzunlukları 1-4 cm arasındadır [5]. Parlak koyu kahverengi genç sürgünler üzerinde siyah lentiseller yoktur [2]. Mayıs-Haziran aylarında açan çiçekler salkım şeklinde ve 6 ile 15 adet çiçeğin bir araya gelmesiyle oluşur. Olgunlaştığı zaman siyah renk alan meyveler, eliptik [6] ve üzüksü yapıdadır [2].

Berberis cretica L. türünün anavatanı Batı Anadolu, Ege Adaları, Yunanistan, Girit ve Kıbrıs olup [8], ülkemizde Isparta, İzmir yöresinde yayılmıştır [4]. Genel olarak kalkerli yamaçlarda 1000-1700 m rakımlar arasında yetişir [8]. Bitki boyu 1m den daha küçük ve uzun dikenli çalıdır. Yapraklar genellikle dikenlere göre daha küçüktür. Yaprak kenarları baticı dikenli dişli veya tam kenarlı uzunlukları 1-1,5 cm arasında oval şekillidir. Eflatun renginde gövdeye sahiptir [2]. Haziran ayında açan [8] çiçekler kısa salkım şeklinde ve 4 ile 10 adet çiçeğin bir araya gelmesiyle oluşur. Olgun meyveleri siyah renklidir [2].

Anavatanı İran ve Türkiye olan *Berberis integerrima* B. türü, ülkemizde Gümüşhane ve Kastamonu yöresinde yayılmıştır [5]. Bitki boyu 3m 'ye ulaşan dikenli bir çalıdır. Dikenler genellikle üçlüdür ve yapraklardan daha küçüktür [2]. Yaprak kenarları kaba dişli veya tam elips şeklindedir. Portakal sarısı-kahverengi veya açık kırmızı renkte genç sürgünlere sahip olan türün, dal üzerindeki siyah lentiselleri belirgin değildir. Çiçekler

salkım şeklinde ve 6 ile 18 adet çiçeğin bir araya gelmesiyle oluşur. Olgun meyveler parlak kırmızı renktedir [6].

***Berberis* Türlerinin Geleneksel Kullanımı**

Berberis vulgaris kök, kabuk, yaprak ve meyvesi antihistamik, antikolinerik, antinosiseptif, iltihap giderici [9] damar daraltıcı, safra söktürücü, müshil [10], kuvvet verici [11], ateş düşürücü [12] özelliği nedeniyle tıbbi olarak, ayrıca meyveleri gıda endüstrisinde, reçel, tatlı, şarap üretiminde ve çay olarak tüketilmektedir [13]. Meyveleri sindirim kolaylaştırıcı, soğuk algınlığına karşı, kökleri ise iştah açıcı olarak da kullanılır [14]. Bitkinin kök ve kabuklarının diüretik, ateş düşürücü, skorbüt, antiseptik, yapraklarının dizanteri, boğaz ağrısı gibi sorunların giderilmesinde kullanıldığı belirtilmiştir [15].

Geleneksel kullanımda *Berberis crataegina* D.C. kısırlık, mayasıl, göz, cilt, ağız, romatizma, baş ağrısı, solunum, dolaşım ve kadın hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır [11]. Denizli, Tunceli, Kahramanmaraş, Muğla, Malatya, Kayseri, Karaman, Erzincan yörelerinde taze kökleri, Iğdır, Sivas, Kayseri, Tunceli yörelerinde meyveleri, Kayseri’de yaprakları ve Karaman’da çiçekleri şeker hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır. Ülkemizin değişik yörelerinde meyveleri; hemoroitlere karşı, tansiyon düşürücü, kan yapıcı, mide rahatsızlıkları, bağırsak rahatsızlıkları, ishal, safra kesesi, kabızlık, sarılık, soğuk algınlığı tedavisinde, kökleri; hemoroitlere karşı, bronşit, soğuk algınlığı, sarılık tedavisinde, dalları; ishal, mide, bağırsak, yara ve kesik tedavisinde, yaprakları; tansiyon düşürücü ve balgam söktürücü, çiçekleri ise sarılık ve hemoroitlere karşı kullanılır. [14] Yaprakları direkt tüketilmekle birlikte çorba ve bulgur pilavına lezzet vermek için katılmaktadır. Meyvelerinden hoşaf, şurup, garaş tatlısı gibi yöresel yiyecekler yapılmaktadır [16].

Berberis cretica, meyve, kök, yaprak ve gövdeleri antiiltihabik, koleretik ve ateş düşürücü ilaç olarak kabul edilmektedir [17]. Uzakdoğu’da sindirim problemi için geleneksel tedavide kullanılır. Tanen, mukus, mineral tuz ve pektin bakımından çok zengindir. Malaria hastalığının gelişimini engeller. Analjezik, antibakteriyel, antiaritmik, antiromatik, antiinflammatory, kolajik etkilere sahiptir [18]. Köklerinde bulunan berberinin antibakteriyel etkileri ve antitümör aktivitesi vardır [19]. Meyvelerde ve bitki aksamında tanen bileşikleri yüksektir. Meyve, kök ve yeşil kısmı önemli antioksidan kapasiteye sahiptir [17].

Berberis integerrima meyveleri jöle, şurup, reçel, meyve suyu, gazlı içeceklerin üretiminde ve İran yemeklerinde kullanılır. Ayrıca gıda endüstrisinde doğal renklendirici olarak kabul edilmektedir [20]. Kök ve gövdesinden elde edilen boya [21] tekstil sanayide yün, ipek ve pamuğun boyanmasında kullanılır [20]. Kökün sulu ekstraktının antioksidan, kolesterolemik, hipoglisemik olduğu gösterilmiş ve diyabet tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir [22]. Yapılan in-vitro ve in-vivo çalışmalar antimikrobiyal, antioksidan, anti-diyabetik, hepatoprotektif ve antihipertansif etkileri olduğunu göstermiştir [20]. Bitki kısımları hemoroit [11] ve sarılık [14] tedavisinde de kullanılmaktadır.

***Berberis* Türlerinin Etken Maddeleri**

Berberis vulgaris berberin, berberamin, palmatin, oksiberberin, kolumbamin, lambertin, isokordin, magniflorin, oksiksantin, n-tiramin, kanabisin G alkaloidleri içerir [9]. Ayrıca hiperozit, rutozit, kersitrozit yapısında flavonoidler [23]. Delfinidol, petunidol formunda Antosiyanlar içermektedir. Ayrıca yapraklarında kafeik asit ve vanillik asit formunda fenolik bileşenler bulundurur [24]. *Berberis crataegina* DC. berberin, palmatin, berbamin, magnoflorin, jotrhorhizin alkaloidleri içerir [25]. Ayrıca kersetol, rutozit yapısında flavonoidler, malvidol formunda antosiyanlar içermektedir. Ayrıca yapraklarında kafeik asit ve klorojenik asit formunda fenolik bileşenler bulundurur [26]. *Berberis cretica*, *Berberis crataegina* DC'nin alkaloidlerinin yanısıra [25,27,28], magnoflorin, koridinemetin, alkaloidlerini içerir [25,28]. Türün flavonoidler ve fenolik bileşenleri *Berberis crataegina* DC türü ile benzerdir [26].

Berberis integerrima berberin, magnoflorin [27], berbamurin, isoboldin, palmatin, oksiyakantin, oblongamin, retikulin, obaberin alkaloidleri içerir [29,30,30]. Ayrıca siyanidol formunda antosiyanlar içermektedir [31].

Sonuç ve Öneriler

Ülkemizde *Berberis* türlerinin etken madde gruplarının belirlenmesi, izolasyonu ve miktarları ile ilgili araştırmaların [15,31,32,33,34] yanı sıra, etnobotanik çalışmalar [10,35] ve farmakolojik özellikleri [9,10,11,14,36,37,38,39] ile gıda olarak kullanımı [40,41] hakkında bazı çalışmalar yapılmıştır. Fakat yapılan literatür çalışmasında kültüre alınması ve yetiştiriciliği ile ilgili ülkemiz coğrafyasında doğal olarak bulunmayan *Berberis thunbergii* türünün peyzaj alanında kullanımına yönelik üretim çalışmaları [42] dışında, Anadolu coğrafyasında doğal olarak yetişen ve ekonomik öneme sahip olan dört türün üretim teknikleri ile ilgili herhangi bir bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır.

Tıbbi bitki olarak gerek berberin ve diğer alkaloidleri, gerekse fenolik bileşikleri ve flavonitleri açısından büyük öneme sahip olan *Berberis* türlerinden faydalanma miktarının artırılması gerekmektedir. Günümüzde diyabet hastaları için çok sayıda berberin etken maddeli ilaç/kapsüller piyasada satılmakta ve tüketilmektedir. Anadolu da geleneksel kullanımda da yeri olan *Berberis* türlerinin kültüre alınması ve bu yönde çalışmaların başlatılması ve bu makalede bahsedilen etken maddelerin ilaç sanayiye kazandırılması için gereklidir.

Sonuç olarak bu dört türün uygun koşullar altında kültüre alınması sürdürülebilir gelişme ve kalkınma için standart özellikli etken madde üretilmesi yönünde çalışmalara önem verilmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Yaltırık, F. and Efe, A., Otsu Bitkiler Sistematığı, İ.Ü. Orman Fakültesi Yayın No:3568, Dilek Matbaası, 1989, İstanbul.
2. Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.1, Edinburgh University Press, 1965, Edinburgh.
3. Anşin, R. and Özkan, Z.C., Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) Odunsu Taksonlar, 1. Baskı, K.T.Ü. Orman Fakültesi Yayın No:19, 1993, Trabzon.
4. TÜBİVES, Turkish Plants Data Service, <http://www.tubives.com>.
5. Kayacık, H., Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematığı, Cilt 2, 4. Baskı, İ.Ü. Orman Fakültesi Yayın No:2766, Bazak Matbaası, 1981, İstanbul.
6. Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol.4, Edinburgh University Press, 1982, Edinburgh.
7. Yücel, E., Yaltırık, F. Ve Öztürk, M., Süs Bitkileri (Ağaçlar ve Çalılar), Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları No:1, 1995, Eskişehir.
8. Akkemik, Ü., Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları, Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, 2018, Ankara.
9. Mokhber-Dezfuli, N., Saeidnia S., Gohari, AR., Kurepaz-Mahmoodabadi, M., Phytochemistry and Pharmacology of *Berberis* Species. *Pharmacogn Rev.* 2014. 8–15.
10. Baytop, A. Farmasötik Botanik. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi Yayın No:6, 1967, İstanbul.
11. Tuzlacı, E. Türkiye'nin Geleneksel İlaç Bitkileri. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2016, İstanbul.
12. Asımgil, A. Şifalı Bitkiler. Timaş Yayınları, 1993, İstanbul.
13. Healthcare, T., PDR for Herbal Medicines, Fourth Edition, 2007, Berlin.
14. Tuzlacı, E. Türkiye Bitkileri Geleneksel İlaç Rehberi. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2016, İstanbul.
15. Saied, S., Begum, S. Phytochemical Studies of *Berberis vulgaris*. *Chemistry of Natural Compounds*. Volume 40, Issue 2, 2004, 137–140.
16. Üçer, M. Karamuk. Türk Folkloru Araştırmalar Yıllığı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1977.
17. Kukula-Koch W., Aligiannis N., Halabalaki M., Skaltsounis A., Influence of Extraction Procedures on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Cretan Baberry Herb, *Food Chemistry* 138 2013, 406-413.

18. Kukula, W., Alıgıannıs, N., Skaltsounıs A.-L., Glowniak, K., Herbal Volatiles from Cretan Barberry (*Berberis cretica*) Obtained by Supercritical Fluid Extraction, *Annales Universitatis.*, Vol:22 No:4,3 2009.
19. Alemardan, A., Asadi, W., Rezaei, M., Tabrizi, L., Mohammadi, S., ‘Cultivation of Iranian Seedless Barberry (*Berberis integerrima* ‘Bidaneh’): A medicinal Shrub’, *Industrial Crops and Products* 50 (2013) 276– 287
20. Knüpffer, H., Leibniz Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Genebankdokumentation., <http://mansfeld.ipk-gatersleben.de>
21. Ashraf, H., Heidari, R., Nejati, V., Publisher, M., Effects of Aqueous Extract of *Berberis integerrima* Root on Some Physiological Parameters in Streptozotocin-Induced D, *Iran Journal of Phamaceutical Research* 12 (2): 425-434, 2013.
22. Dauguet, J.C., Foucher, J.P., Pourrat, H., Sur Les Flavonoides Des Feuilles De Quelques *Berberis*. *Plant. Med. Phytoter.* 16(1):16-24, 1982.
23. Dortunç, T., *Berberis crataegina* DC. ve *Berberis cretica* L. Polifenolik Bileşikleri Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniv. Ecz. Fak. 1979.
24. Çubukçu, B., Les Alkaloides Quaternaires de *Berberis crataegina* DC. et de *B. cretica* L. *Plant. Med. Phytoter.* 2(4):272-280, 1968.
25. Çubukçu, B., Dortunç, T., *Berberis crataegina* DC. ve *Berberis cretica* L. Polifenolik Bileşikler Üzerinde Araştırmalar. Doğa, Seri C, 6(1):11-14, 1982.
26. Koşar M. Türkiye’de yetişen *Berberis* L. türlerinin alkaloidleri (Alkaloids of *Berberis* species growing in Turkey). Ph.D. Thesis, Anadolu University, Institute of Health Sciences, 1999, Eskişehir.
27. Ross, S.A., Gözler, T., Freyer, A.J., Shamma, M., Corydinemethine A New Phenanthrene Alkaloid from *Berberis cretica*. *J. Nat. Prod.* 49(1):159-162, 1986.
28. Karimov, A., Telezhenetskaya, M.V., Lutfullin, K.L., Yunusov, S.Y., *Berberis* Alkaloids. The New Alkaloid Oblongamine. *Khim. Prir. Soedin.* (1):80-83, 1977.
29. Karimov, A., Telezhenetskaya, M.V., Yunusov, S.Y., Baldon, T., Alkaloids from *Berberis integerrima*. *Khim. Prir. Soedin.* (3):418, 1978.
30. Vereskovskii, V.V., Shapiro, D.K., Chromatografic Study of Anthocyanin Pigments in the Fruit of Some Barberry Species. *Khim. Prir. Soedin.* (4):569-570, 1985.
31. Charehsaz, M., Sipahi, H., Engin, C.M., Üstündağ, A., Ülker, Ö., Yalçın, D., Aydın, A., Yesilada, E., The fruit extract of *Berberis crataegina* DC. exerts potent antioxidant activity and protects DNA integrity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(23), 24. 2015.
32. Ersoy, N., Kupe, M., Halil, I. S., Ercişli, S. Physicochemical diversity among barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruits from eastern anatolia. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(2). 2018.
33. Karabulut, A., Bayburt İlinde Doğal Olarak Bulunan *Berberis vulgaris* L. ve *Berberis Crataegina* DC. Yabancı Meyvelerinin Biyokimyasal Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi, 2018.
34. Gündoğdu, M., Determination of Antioxidant Capacities and Biochemical Compounds of *Berberis vulgaris* L. Fruits, *Advances in Environmental Biology*, 7(2), 344-348, 2013
35. Aşam, E., Karamuk (*Berberis crataegina* DC.) Meyvesinden Doğal Gıda Boyası Eldesi. Yüksek Lisans Tezi, Tunceli Üniversitesi, 2015.
36. Abd El-Wahab, A. E., Ghareeb, D. A., Sarhan, E. E., Abu-Serie, M. M., El Demellawy, M. A. (2013). In vitro biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 218. 2013.
37. Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, İ., and Aslan, A. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology.* 79(3), 325-329. 2002.

38. Ertürk, İ., *Berberis crataegina* DC. (Karamuk) Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, 1994.
39. Sarıkaya, S., Öner, H., Harput, Ü.Ş., Türkiye Florasında Diyabet Tedavisinde Kullanılan Tıbbi Bitkiler, Ankara Ecz. Fak. Derg. 39 (4) 317-342, 2010
40. Okurkan, M., Karamuk (*Berberis crataegina*) Antosiyaninlerinin Enkapsülasyonu ve Dondurma Üretiminde Kullanılabilirliğinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, 2018.
41. Arslaner, A., Çakır, Ö., Çakıroğlu, K., Karamuklu Dondurma, International Erzincan Symposium, 2016.
42. Kaşıkçı, İ., Acer *Platanoides* L. Krimson King *Berberis Thunbergii* DC. Atropurpurea ve *Prunus crasifera* EHR. *Pisardii nigra* Türlerinin Sera Koşullarında Çelikle Üretimi., Peyzaj Mimarlığı Dergisi, 2012-2013.

Effect of Juglone on Seed Germination and Seedling Growth of Four Common Vegetables

İsmail Kocacaliskan*¹, Tugce Akgul², Semiha Erisen¹

ABSTRACT

In this study, effect of juglone on seed germination and post-germinative seedling growth of four common vegetables (aubergine, pepper, zucchini and gherkin) has been investigated. Juglone treatments were applied at 0 (control), 0.001, 0.01, 0.1 and 1 mM concentrations. Seed germination of aubergine and pepper was significantly inhibited by juglone but in the case of zucchini and gherkin, juglone didn't change the germination of the seeds. However, both root and shoot elongation and dry weights of the seedlings of all the species studied were significantly decreased by juglone above 0.01 mM concentrations with respect to control. The sensitivity range of the species to juglone was determined as aubergine, pepper, zucchini and gherkin, respectively. That is, the most sensitive species to juglone was found aubergine that juglone inhibited its seedling growth at even 0.001 mM concentration.

ARTICLE HISTORY

Received

28 March 2019

Accepted

27 April 2019

KEYWORDS

Juglone, germination, seedling growth, aubergine, pepper, zucchini, gherkin

Introduction

The chemical interactions mainly between plants are named allelopathy. The organic substances playing roles in allelopathy are called allelochemicals. The release of allelochemicals from plants occurs by volatilization, leaching from leaves, exudation from roots and degradation of dead plant parts. Allelochemicals become stressful when they are toxic. Sometimes an allelochemical produced by a plant is harmful to another but beneficial to a third plant species at the same concentration [1-6]. Temperature was the most effective parameter in increasing synthesis and exudation of allelochemicals in plants [7]. The inhibitory effect of walnut on associated plants is one of the oldest examples of allelopathy and dominant allelochemical in walnut allelopathy is juglone (5-hydroxy-1,4 naphthoquinone). Hydrojuglone which is a nontoxic form is abundant in several organs of walnut tree. When exposed to air or to some oxidizing substance hydrojuglone, it is oxidized to its toxic form, juglone [8, 9]. Juglone is not only allelopathically important but it also is an important allelochemical in its antiviral [10], antibacterial and antifungal [11-14], antioxidant [15, 16], herbicidal [17], and anticancer [18-21] properties.

¹ Molecular Biology and Genetics Department, Yıldız Technic University, İstanbul, Turkey

² Graduate School of Natural and Applied Sciences, Yıldız Technic University, İstanbul, Turkey

*Corresponding author: ikocacaliskan@gmail.com

It is an agronomic importance to be selecting plant species not sensitive to juglone for planting in the same field with walnut trees. Using this intercropping system is commonly seen in Turkey, as can be seen in several countries on the world. However, the agronomic efficiency of some plant species may be diminished by the detrimental effect of walnut on juglone sensitive species. Although juglone has been shown to increase growth of melon seedlings, it has contrarily been shown to decrease seedling growth of some vegetables such as cress, tomato, cucumber, radish and watermelon. [2].

However, we could not encountered any study about the effect of juglone on aubergine, pepper, zucchini and gherkin in the literature. In addition, these species are common cultivated vegetables on the world. Therefore, in this work, we aimed to reveal if juglone's allelopathic effect is inhibitory or stimulatory on seed germination and seedling growth of these vegetables.

Materials and Methods

In this work, seeds of aubergine (*Solanum melongena* cv. Aydın siyahi), pepper (*Capsicum annuum* cv. Yalova çarliston), zucchini (*Cucurbita pepo* cv. Sakız) and gherkin (*Cucumis flexuosus* cv. Acur) were obtained from "Balıkesir Tohumculuk" company/Turkey. The seeds were surface sterilized with 1% sodium hypochloride. At least 20 seeds were placed in a Petri dish furnished with sheets of filter paper moistened with distilled water (control) or with juglone solutions in the range of 0.001, 0.01, 0.1 and 1 mM concentrations, between 4-14 ml depending on seed size. After the treatments, Petri dishes were kepted in an incubator at 25 °C in continuous dark for seven days. The germination percentages of the seeds were followed and recorded every day during the incubation. In the last of 7th day, germination rate of the seeds was determined by dividing total germination percentages of the seeds to 7, then the seedling growth was defined by measuring lengths and weights of the seedlings separated to root and shoot. Each treatment was replicated three times and statistical significance between the means of the treatments was indicated on the Tables at 0.05 level using Duncan's multiple range test.

Results and Discussion

Germination rate of the aubergine seeds were significantly decreased by juglone at 0.01, 0.1 and 1 mM juglone concentrations according to control (Table 1).

Table 1 Effects of juglone on germination of seeds and growth of seedlings in aubergine.

Juglone (mM)	Germination rate	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Root dry w. (mg)	Shoot dry w. (mg)
0 (Control)	66 a	3.6 a	2.9 a	2.9 a	5.7 a
0.001	65 a	2.5 b	1.9 b	2.0 b	4.2 b
0.01	51 b	2.3 b	1.7 b	1.5 b	3.3 b
0.1	49 b	2.2 b	1.6 b	0.9 b	2.6 b
1.0	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c

Means with the same letters in each column are not significantly different (Duncan, 5%); n=3.

Juglone has also decreased germination of the pepper seeds at 1 mM (Table 2). Even 1 mM juglone has completely inhibited seed germination of these species that germination rate was zero. However, germinations of the zucchini and gherkin seeds were not decreased by juglone in any concentrations (Table 3 and 4).

Table 2 Effects of juglone on germination of seeds and growth of seedlings in pepper.

Juglone (mM)	Germination rate	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Root dry w. (mg)	Shoot dry w. (mg)
0 (Control)	62 a	4.9 a	3.1 a	4.8 a	8.2 a
0.001	61 a	3.5 ab	2.8 ab	3.6 ab	7.5 ab
0.01	59 a	3.2 ab	2.6 ab	3.0 ab	6.9 ab
0.1	56 a	2.7 b	2.3 b	2.7 b	5.8 b
1.0	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c

Means with the same letters in each column are not significantly different (Duncan, 5%); n=3.

Table 3 Effects of juglone on germination of seeds and growth of seedlings in zucchini.

Juglone (mM)	Germination rate	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Root dry w. (mg)	Shoot dry w. (mg)
0 (Control)	65 a	9.3 a	4.2 a	30.2 a	55.6 a
0.001	60 a	8.9 a	3.7 ab	23.5 ab	47.8 ab
0.01	61 a	8.0 ab	3.5 ab	20.4 b	39.6 b
0.1	65 a	7.6 ab	3.4 ab	17.3 b	33.5 b
1.0	65 a	6.2 b	3.0 b	15.5 b	29.4 b

Means with the same letters in each column are not significantly different (Duncan, 5%); n=3.

Table 4 Effects of juglone on germination of seeds and growth of seedlings in gherkin.

Juglone (mM)	Germination rate	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Root dry w. (mg)	Shoot dry w. (mg)
0 (Control)	65 a	8.1 a	5.8 a	37.6 a	38.2 a
0.001	61 a	7.7 ab	5.0 ab	33.1 ab	35.5 a
0.01	61 a	7.8 ab	4.8 ab	30.2 b	24.2 b
0.1	64 a	6.6 ab	4.5 ab	28.6 b	20.6 b
1.0	61 a	5.9 b	4.1 b	25.3 b	17.9 b

Means with the same letters in each column are not significantly different (Duncan, 5%); n=3.

In previous studies, it has been shown that juglone's inhibitory effect was on seedling growth rather than seed germination. For example, 1 mM juglone had only decreased seed germination of four species (cress, tomato, cucumber and alfalfa) among 11 plant species studied. But root and shoot elongation of all of the species studied were decreased by juglone, except muskmelon [2]. As seen in Table 1, with respect to control both elongation and dry weight of root and shoot of the aubergine were decreased by all the juglone concentrations. In the case of pepper, while 0.1 and 1 mM juglone concentrations were found to decrease elongation and dry weights of the seedlings, the lower concentrations did not show a significant decrease in the growth parameters

(Table 2). On the other hand, although root and shoot elongation of zucchini and gherkin were significantly decreased only by 1 mM juglone, their root and shoot dry weights were decreased by 0.01, 0.1 and 1 mM juglone concentrations according to control (Table 3 and 4). Therefore, it may be said that seedling dry weight of zucchini and gherkin were effected by juglone more than their seedling elongation. Formerly, it has been shown that juglone affects plant growth depending on species and concentration. In this study, aubergine and pepper were found more sensitive to juglone than zucchini and gherkin. The reason of this may be sourced from the difference of family that aubergine and pepper are belong to Solanaceae, whereas zucchini and gherkin are belong to Cucurbitaceae family. Generally, juglone in higher concentrations than 0.01 mM shows phytotoxic effect depending on plant species [23] But lower concentrations of juglone than this level may show stimulatory effect or no effect on plant growth [2, 9, 22-25]. Formerly, elongation and dry weight of the root were found less effected than the shoot by juglone in sixteen plant species [23]. However, in our study, juglone did not show a different effect on the elongation and dry weight of root and shoot in the four species studied, as previously mentioned by Kocaçalışkan and Terzi (2001) in eleven plant species.

Plant growth reducing effect of juglone is known to be common. But no information was available about the juglone's allelopathic effect on four plant species studied in this work. Although the species were seen to be decreased their germination and seedling growth by juglone, there were differences between the species in juglone tolerance. The tolerance range of the species to juglone can be aligned as zucchini, pepper and aubergine. That is, the most sensitive species to juglone was aubergine that even 0.001 mM juglone inhibited its seedling growth. Juglone is exuded from walnut trees and accumulated in canopy soil of walnut about 0.1 mM but rarely it reach to 1 mM concentration depending on species, season and distance from trunk of walnut [23, 26, 27]. Thus, this study revealed that the species studied, especially aubergine and pepper, are not advisable cultivating in a walnut garden because of the juglone phytotoxicity.

References

1. Rizvi, S.J.H. and V. Rizvi, Allelopathy. 1992, New York: Chapman and Hall.
2. Kocacaliskan, I. and I. Terzi, Allelopathic effects of walnut leaf extracts and juglone on seed germination and seedling growth. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2001. 76(4): p. 436-440.
3. Kocaçalışkan, İ., Allelopati. 2006, Ankara, Turkey: Bizim Büro Press-In Turkish,.
4. Cheema, Z.A. and M.F. Abdulwahid, Allelopathy: Current trends and future applications. 2013, Berlin, Heidelberg: Springer-verlag.
5. Reigosa, M.J., N. Pedrol, and L. González, Allelopathy A Physiological Process with Ecological Implications. 2006, Springer, Netherland.
6. Rice, E.L., Allelopathy. 1984, New York: 2nd Edition, Academic Press
7. Pramanik, M.H.R., et al., Effect of temperature and photoperiod on phytotoxic root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) in hydroponic culture. *J. Chem. Ecol.*, 2000(26): p. 1953-1967.
8. Lee, K.C. and R.W. Campbell, Nature and occurrence of juglone in *Juglans nigra* L. . *Hort Sci.*, 1969(4): p. 297-298.
9. Segura-Aguilar, J., I. Hakman, and J. Rydström, The effect of 5OH-1, 4-naphthoquinone on Norway spruce seeds during germination. *Plant Physiology*, 1992. 100(4): p. 1955-1961.
10. Montenegro, R.C., et al., Cytotoxic activity of naphthoquinones with special emphasis on juglone and its 5-o-methyl derivative. *Chemico-Biol. Interactions*, 2010, 184(3): p. 439-448.
11. Clark, A.M., T.M. Jurgens, and C.D. Hufford, Antimicrobial activity of juglone. *Phytotherapy Research*, 1990. 4(1): p. 11-14.
12. Arasoglu, T., et al., Synthesis, characterization and antibacterial activity of juglone encapsulated PLGA nanoparticles. *Journal of applied microbiology*, 2017. 123(6): p. 1407-1419.
13. Arasoglu, T., et al., Enhancement of Antifungal Activity of Juglone (5-Hydroxy-1, 4-naphthoquinone) Using a Poly (d, l-lactic-co-glycolic acid)(PLGA) Nanoparticle System. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2016. 64(38): p. 7087-7094.
14. Kocaçalışkan, İ., et al., Varietal differences in antimicrobial activities of walnut (*Juglans regia* L.) leaf extracts. *Gaziosmanpasa J. Sci. Res.* , 2018, 7(3): p. 173-180.
15. Chobot, V. and F. Hadacek, Milieu-dependent pro- and antioxidant activity of juglone may explain linear and nonlinear effects on seedling development. *Journal of chemical ecology*, 2009. 35(3): p. 383-390.
16. Altikat, S., et al., Allelopathic effects of juglone on growth of cucumber and muskmelon seedlings with respect to antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 2013. 14(3 A): p. 1244-1253.
17. Topal, S., et al., Herbicidal effects of juglone as an allelochemical. *Phyton*, 2007. 46(2): p. 259-269.
18. Sugie, S., et al., Inhibitory effects of plumbagin and juglone on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in rats. *Cancer letters*, 1998. 127(1-2): p. 177-183.
19. Aithal, K.B., et al., Juglone, a naphthoquinone from walnut, exerts cytotoxic and genotoxic effects against cultured melanoma tumor cells. *Cell biology international*, 2009. 33(10): p. 1039-1049.
20. Xu, H., et al., Juglone, isolated from *Juglans mandshurica* Maxim, induces apoptosis via down-regulation of AR expression in human prostate cancer LNCaP cells. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2013. 23(12): p. 3631-3634.
21. Xu, H.-L., et al., Anti-proliferative effect of Juglone from *Juglans mandshurica* Maxim on human leukemia cell HL-60 by inducing apoptosis through the mitochondria-dependent pathway. *European Journal of Pharmacology*, 2010. 645(1): p. 14-22.
22. Whittaker, R.H. and P.P. Feeny, Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 1971. 171: p. 757-770.

23. Rietveld, W.J., Allelopathic effects of Juglone on germination and growth of several herbaceous and woody species. *J. Chem. Ecol.*, 1983(9): p. 295 – 308.
24. Terzi, I., Allelopathic effects of juglone and walnut leaf and fruit hull extracts on seed germination and seedling growth in muskmelon and cucumber. *Asian Journal of Chemistry*, 2009. 21(3): p. 1840-1846.
25. Akin, B. and I. Kocacaliskan. Effect of Juglone on Seed Germination and Seedling Growth of Endemic Species *Aubrieta olympica* and *Arabis drabiformis* in Tissue Culture Conditions. *Phyton-Annales Rei Botanicae*. 2016, 56(1): p. 121-128..
26. Ponder, F. and S.H. Tadros, Juglone concentration in soil beneath black walnut interplanted with nitrogen fixing species. *J. Chem. Ecol.*, 1985, 11(7): p. 937-942.
27. Jose, S. and A.R. Gillespie, Allelopathy in black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping. I. Spatio-temporal variation in soil juglone in a black walnut–corn (*Zea mays*L.) alley cropping system in the midwestern USA. *Plant and Soil*, 1998. 203(2): p. 191-197.

