



SAKARYA UNIVERSITY  
OF APPLIED SCIENCES

JOIN <sup>A</sup>BT

# JOURNAL OF AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY

Volume: 1 | Issue: 01 | Year: 2020 | e-ISSN:



# Journal of Agricultural Biotechnology

## VOL. 1 NO. 1 (2020): DECEMBER 2020 TABLE OF CONTENTS

### Research Articles

- [\*\*Response of Some Rice Varieties \(\*Oryza sativa L.\*\) to Salinity\*\*](#)

İsmail NANELİ, Fatmagül BAGI, Selahattin KONDAK, Yasin ÖZGEN

1-5

[PDF](#)

- [\*\*A Research on Micropropagation of \*Loropetalum chinense\*\*\*](#)

Neslihan BABALI, Taki DEMİR

12-17

[PDF](#)

- [\*\*Determination of Some Important Pomological and Biochemical Properties of the Genotypes of Strawberry Tree \(\*Arbutus unedo L.\*\) Selected in Bolu Province in Turkey\*\*](#)

Ömer BEYHAN, Taki DEMİR, Hamdi ZENGİNBAL

31-38

[PDF](#)

### Review Articles

- [\*\*Effects of Different Rotation Techniques on Crop Production and Environment\*\*](#)

Ömer Faruk BÜYÜKTAVŞAN, İsmail NANELİ

6-11

[PDF \(Türkçe\)](#)

- [\*\*Karboksidotrofik Mikroorganizmaların Karbonmonoksit Dehidrojenazları\*\*](#)

Melis ÇOKDİNLEYEN, Bilge Hilal ÇADIRCI EFELİ

18-30

[PDF \(Türkçe\)](#)



<http://journals.subu.edu.tr/index.php/joinabt/issue/view/1>

## Response of Some Rice Varieties (*Oryza sativa L.*) to Salinity

İsmail NANELİ<sup>1\*</sup>, Fatmagül BAGI<sup>2</sup>, Selahattin KONDAK<sup>3</sup>, Yasin ÖZGEN<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Applied Sciences University, Agricultural Faculty, Field Crops Department, Sakarya, Turkey

<sup>2</sup> İğdır University, Agricultural Faculty, Field Crops Department, İğdır, Turkey

<sup>3</sup>University of Szeged, Institute of Biology, Department of Plant Biology, Szeged, Hungary

<sup>4</sup>Ankara University, Faculty of Agriculture, Field Crops Department, Ankara, Turkey

### ABSTRACT

In our country, soil salinity is an extremely important problem. In particular, it occurs in regions where poor drainage conditions. It leads to significant yield and quality losses in products. Selection of tolerant plants to salinity is essential in terms of soil improvement and product yield. Paddy plants are resistant to salinity to a certain degree and can be used in the improvement of salty soils. However, the salinity resistance of each paddy type may vary. In this research, the response of seeds was measured in saline concentrations of 14 rice cultivars at different doses (0 ppm, 500 ppm, 1400 ppm, 1800 ppm, 3600 ppm, 5200 ppm). To applications; germination percentage, grass scabbard length, etc. were investigated. It was determined that germination decreased from 97.46% to 95.48% and the grass scabbard length decreased from 2.4781 to 1.9271 with increasing salt doses. Among the varieties, it has been determined that Kızıltan stands out in the germination rate, Meco and Vasco in the grass scabbard length. All varieties were taken to study as 3 repetitions. In terms of germination percentage and length of grass scabbard among the varieties studied, statistical data were; 1% and 5% were found to be important.

In this study, the performance of the varieties against salinity was determined and it was determined that some varieties could be used for resistance to salinity.

**Keywords:** Doses, Rice, Salinity, Variety.

### Bazı Çeltik Çeşitlerinin (*Oryza sativa L.*) Tuzluluğa Tepkisi ÖZ

Ülkemizde, toprak tuzluluğu çok önemli bir problemdir. Özellikle, zayıf drenaj koşullarındaki bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Tuzluluk, üretimde önemli verim ve kalite kayıpları ortaya çıkarır. Çeltik bitkisinin belli dereceye kadar tuzluluğa dayanıklı olduğu ve tuzlu toprakların ıslahında kullanılabilmektedir. Fakat her çeltik çeşidinin tuzluluğa dayanıklılığı değişkenlik gösterebilir. Araştırmamızda, 14 çeltik çeşidi tohumlarının farklı dozlarda (0 ppm, 500 ppm, 1400 ppm, 1800 ppm, 3600 ppm, 5200 ppm) tuz konsantrasyonlarında ölçülmüştür. Çalışmalarda; çimlenme yüzdesi ve çim kını uzunluğu belirlenmiştir. Artan tuz dozlarıyla çimlenmenin %97.46'dan %95.48'e gerilediği ve çim kını uzunluğununsa 2.4781'den 1.9271'e gerilediği saptanmıştır. Çeşitlerden, çimlenme oranında Kızıltan'ın, çim kını uzunlığında Meco ve Vasco'nun diğerlerine göre öne çıktıği belirlenmiştir. Çimlenme yüzdesi ve çim kını uzunluğu bakımından çeşitler arasında %1 ve %5 önemli bulummuştur.

Bu çalışmada, tuzluluğa karşı çeşitlerin performansı belirlenmiş ve bazı çeşitlerin tuzluluğa karşı dirençli olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Dozlar, Çeltik, Tuzluluk, Çeşit.

\* Corresponding Author's email: ismailnaneli@subu.edu.tr

## 1. Introduction

Salinity is an important problem despite all the technological advances going forward. Various physiological parameters are negatively affected during growth and development of plants exposed to salinity during their cultivation. In addition, it the biochemical changes possibly occurring when plants are subjected to harmful stress conditions. It is a fundamental question that is seen in very wide areas of the world [1].

The rice is the third in terms of yields and production in the world, with a total area of 159.8 million hectares and a production quantity of 741.0 million tons from other cereal crops [2]. A significant portion (over 90%) of rice production in the world is carried out in Asian countries [3]. The countries with the most rice production are respectively; China (209.5 million tons), India (158.8 million tons) and Indonesia (77.3 million tons). India is the first country with 43.0 million hectares in terms of planting area. However, production problems to marginal areas like to areas in high slopes with irrigation not suitable for rice cultivation, inadequate maintenance because of the reasons for the amount of production is in the second sequence [4].

Turkey ranks 37 in the world by production quantities of 900 thousand tons of rice, ranks 5th with high yields obtained from unit area. The development of high-yielding varieties and their use in production in Turkey increases the amount of production. Rice production in our country is carried out at about 110 thousand hectares, yield  $821 \text{ kg da}^{-1}$  [5]. The rice is originated in Southeast Asia, spreading from South India to China about 6000 years ago and reaching about 500 years ago in Turkey [6]. The rice produced is the *Oryza* species that easily adapt to different habitats [7]. It can easily adapt to different textures (sandy-loam, clay) and pH 3-8 soil. Rice crop is moderately resistant to salinity, all stages of development is important for the determination of the salinity damage. In highly salty soils; germination, tillering and plant height becomes a decrease [8].

In different regions of the world; There are different production systems such as Upland rice, Aerobic Rice, Irrigated lowland, Rainfed lowland, Deep water and Floating rice production, and the production system made by irrigation is the most preferred system by the producers [9].

In studies conducted throughout the all vegetation period in different types of rices such as Indica and Japonica, researchers have determined that some varieties are tolerant to salinity [10, 11]. In studies conducted during the germination stage of seedlings, researchers have reported that some rice genotypes are medium tolerance and tolerant to salinity [12, 13].

The yield and quality loss is high in salty soils where rice cultivation is made [8]. The amount requested by consumers to increase the production of rice products in Turkey and to provide at a reasonable price is of great importance. To increase the amount of production; It is extremely important to identify rice genotypes that meet regional environmental conditions per unit area and have high yield and quality parameters. The yield and yield components in the crop are affected significantly in the region where it is cultivated [14]. Genetic structure, environment, and genotype x environment interactions are important factors affecting the performance of genotypes [15]. Selection of rice varieties suitable for the production of rice; it will benefit the producer in terms of high efficiency, and the consumer in terms of quality. With this research, the response of some rice varieties due to the salt concentration was investigated. It is known that the production amount and yield values are low in soils with high salt content where paddy cultivation is done.

According to the results, it is aimed to increase the production amount and yield by determining the varieties resistant to salinity and recommending them to the growers in regions with high salinity.

## 2. Methodology

In the study was used 14 rice (*Oryza sativa L.*) varieties. Varieties; Trakya Agricultural Research Institute (9 varieties), Harman Seed Food Marketing Agricultural Trade (2 varieties), Tekcan Seed Food and Agricultural Products Industry (3 varieties) were obtained (Table 1). The obtained seed samples were counted 100 units and placed in Petri dishes. All varieties included in this study as three replications. All varieties of seeds at 6 different doses (0 ppm, 500 ppm, 1400 ppm, 1800 ppm, 3600 ppm, 5200 ppm) in 90% NaCl solution was added. Doses applied to the samples were prepared with 100 ml of distilled water. The 90% NaCl solution was given to the rice seeds at room temperature and was applied 6 times a day. A 0.01 mm precision caliper was used to determine the length of grass scabbard. The obtained results were analyzed by SPSS 17.0 statistics program. Duncan multiple comparison test was applied in the analysis. Tests were carried out at 1% and 5% levels.

**Table 1.** Varieties used in the research and the institutions from which they were provided.

Varieties	Provided Organizations
Halilbey	Trakya Agricultural Research Institute
Osmancık-97	Trakya Agricultural Research Institute
Şumnu	Trakya Agricultural Research Institute
Edirne	Trakya Agricultural Research Institute
Çakmak	Trakya Agricultural Research Institute
Kızıltan	Trakya Agricultural Research Institute
Efe	Trakya Agricultural Research Institute
Mis 2013	Trakya Agricultural Research Institute
Tosyagüneşi	Trakya Agricultural Research Institute
Cammeo	Harman Seed Food Marketing Agricultural Trade
Meco	Harman Seed Food Marketing Agricultural Trade
Ronaldo	Tekcan Seed Food and Agricultural Products Industry
Nembo	Tekcan Seed Food and Agricultural Products Industry
Vasco	Tekcan Seed Food and Agricultural Products Industry

## 3. Results and Discussion

Different rice genotypes (*Oryza sativa L.*) generally become very sensitive at the seedling period, affecting plant density in salt-affected fields [16, 17]. As a percentage of germination in the study, the difference between the varieties at all doses of NaCl was statistically significant at 1% and 5% levels. The average germination percentages of the varieties were determined to be 97.46% (0 ppm) without NaCl application (Table 2). In other studies on salinity, the difference between rice genotypes was found statistically significant [18]. When the highest control germination percentage is obtained in the Nembo variety, the Efe and Meco varieties has the lowest germination percentage. The average of the varieties of NaCl-500 ppm application decreased to 97.14%. Meco has the lowest germination percentage while Kızıltan variety has the highest germination percentage. Tosyagüneşi and Ronaldo varieties came to the foreground in NaCl-1400 ppm dose application. The germination percentages of the varieties with the NaCl-1800 ppm varieties mean dose are 96.42% and the Nembo variety have the minimum germination percentages. In the tested varieties, there was a severe change in NaCl-3600 ppm and NaCl-5200 ppm doses and a significant decrease in the average of the varieties. Especially, Mis 2013 and Halilbey varieties with the NaCl-5200 ppm dose gave the lowest germination percentage value with the lowest 94.30% and 94.33%, respectively. The researchers obtained similar results in different studies [19, 20, 21]. In addition, the root dry weight, the length of the grass scabbard are important parameters in determining the salinity [11]. It was determined that the difference between the varieties in terms of grass lengths of some rice cultivars subjected to NaCl application at different doses was statistically significant at 1% level at all doses (Table 3).

**Table 2.** Effect of NaCl application at different doses on germination percentage in some rice varieties

Varieties/Doses	Germination Percentage (%)					
	0 ppm	500 ppm	1400 ppm	1800 ppm	3600 ppm	5200 ppm
Halilbey	97.91	ab**	97.13	ab*	96.38	bc*
Osmancık-97	98.30	ab	97.31	ab	96.82	ab
Şumnu	96.97	ab	97.47	ab	96.99	ab
Edirne	97.30	ab	97.80	ab	96.05	c
Çakmak	96.94	ab	96.13	ab	97.07	ab
Kızıltan	97.81	ab	98.80	a	96.71	b
Efe	96.30	b	97.52	ab	97.38	ab
Mis 2013	97.63	ab	97.13	ab	96.66	b
Tosyagüneşi	96.88	ab	96.47	ab	97.68	a
Cammeo	97.41	ab	98.45	ab	97.38	ab
Meco	96.30	b	95.80	b	96.61	b
Ronaldo	97.73	ab	96.94	ab	97.71	a
Nembo	98.94	a	98.13	ab	96.91	b
Vasco	97.78	ab	96.80	ab	96.59	b
Mean	97.46a*		97.14ab		96.92ab	
C.V	1.0		1.1		0.8	
					0.9	
					0.7	
					1.2	

\*, \*\*; It is important at 5%, 1%, respectively

**Table 3.** Effect of NaCl application at different doses on length of grass scabbard in some rice varieties

Varieties/Doses	Length of Grass Scabbard (mm)					
	0 ppm	500 ppm	1400 ppm	1800 ppm	3600 ppm	5200 ppm
Halilbey	2.1510	e**	2.1603	de**	2.0753	d**
Osmancık-97	2.4747	a-e	2.4203	a-d	2.3420	a-d
Şumnu	2.2190	de	2.1183	de	2.0880	d
Edirne	2.2613	de	2.0500	e	2.1303	d
Çakmak	2.6813	abc	2.5803	abc	2.5503	abc
Kızıltan	1.6970	f	1.5960	f	1.5660	e
Efe	2.4303	b-e	2.3293	b-e	2.2993	bcd
Mis 2013	2.3737	cde	2.2727	cde	2.2427	cd
Tosyagüneşi	2.7340	ab	2.6330	ab	2.6030	ab
Cammeo	2.7357	ab	2.7003	a	2.6047	ab
Meco	2.8050	a	2.7040	a	2.6740	a
Ronaldo	2.8013	a	2.6347	ab	2.6703	a
Nembo	2.5213	a-d	2.3737	a-e	2.3903	a-d
Vasco	2.8077	a	2.7067	a	2.6767	a
Mean	2.4781a**		2.3771b		2.3509b	
C.V	8.5		9.0		9.4	
					9.7	
					10.3	
					11.6	

\*, \*\*; It is important at 5%, 1%, respectively

In the case of NaCl-5200 ppm dozen application, there was a significant decrease compared to other doses. While Ronaldo, Meco and Vasco varieties have the highest grass scabbard length, Kızıltan variety has the lowest value [21, 22]. According to the research results, it was determined that Vasco, Nembo, Ronaldo, Meco, Cammeo, Tosyagüneşi, Çakmak, Osmancık-97 genotypes were more resistant to salinity than other genotypes that can be used in soils with high salt content where paddy is grown.

## References

- [1] Massoud, F. I. (1974). Salinity and alkalinity as soil degradation hazards. FAO/UNDP expert consultation on soil egradation. June 10-14, FAO, Rome, p. 21.
- [2] FAO. (2017). Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- [3] Kato, Y., and Katsura, K. (2014). Rice Adaptation to Aerobic Soils: Physiological Considerations and Implications for Agronomy. Plant Prod. Sci. 17 (1), 1-12.
- [4] FAO. (2018). Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- [5] Anonymous. (2014-2015). Turkey Statistical Institute.
- [6] Kün, E. (1997). Tahıllar-I (Serin İklim Tahılları). Ankara Univ. Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:1451, 1997, Ankara.

- [7] Vaughan, D. (1994). The Wild Relatives of Rice: A Genetic Resources Handbook. International Rice Research Institute, Los Baos, Philippines, 1-101.
- [8] Sürek, H. (2002). Çeltik Tarımı. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. İstanbul.
- [9] Sezer, İ., Akay, H., Öner, F., and Şahin, M. (2012). Çeltik Üretim Sistemleri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 5 (2), 06-11.
- [10] Heenan, D. P., Lewin, L. G., and McCaffery, D. W. (1988). Salinity tolerance in rice varieties at different growth stages. Aust. J. Exp. Agric. 28: 343-349.
- [11] Lee, K. S., Choi, W. Y., Ko, J. C., and Kim, T. S., Gregorio, G. B. (2003). Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. Planta 216: 1043–1046.
- [12] Lee, K. S. (1995). Variability and genetics of salt tolerance in japonica rice (*O. sativa* L.) Ph.D. thesis, University of the Philippines Los Baños, Laguna.
- [13] Lee, K. S., and Senadhira, D. (1996). Salinity tolerance in japonica rice (*O. sativa* L.) SABRAO J 28: 11–18.
- [14] Savşatlı, Y., Gülmüşer, A., and Sezer, İ. (2008). “Çeltikte Bazı Salkım ve Tane Özellikleri Arasındaki İlişkiler”, OMÜ, Zir. Fak. Der. 23 (1), 25-31.
- [15] Keser, M., Bolat, N., Altay, F., Çetinel, M., Çolak, N., and Sever, A. L. (1999). Çeşit Geliştirme Çalışmalarında Bazı Stabilite Parametrelerinin Kullanımı. Orta Anadolu'da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu 8-11 Haziran, 64-69, Konya.
- [16] Lutts, S., Kinet, J. M., and Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) varieties, differing in salinity resistance. Ann. Bot. 78: 389-398.
- [17] Hakim, M. A., Juraimi, A. S., Begum, M., Hanafi, M. M., Ismail, M. R and Selamat, A. (2010). Effect of salt stress on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology Vol. 9(13), pp. 1911-1918, 29.
- [18] Akbar, M., and Ponnamperuma, F. M. (1982). Saline soils of South and Southeast Asia as potential rice land. In rice research strategies for the future. IRRI, 1982, pp. 265-281.
- [19] Khan, M. S. A., Hamid, A., and Karim, M. A. (1997). Effect of sodium chloride on germination and seedling characters of different types of rice (*Oryza sativa* L.). J. Agron. Crop Sci. 179: 163-169.
- [20] Maribel, L., and Dionisio, S., Tobita, S. (1998). Antioxidant Responses of Rice Seedlings to Salinity Stress. Plant Science 135, 1998, 1-9.
- [21] Alam, M., Stuchbury, T., and Naylor, R. E. L., Rashid, M.A. (2004). Effect of Salinity on Grown of Some Modern Rice Cultivars. Journal of Agronomy 3(1): 1-10.
- [22] Zeng, L., and Shannon, M. C. (2000). Salinity Effects on Seedling Growth and Yield Components of Rice. Crop Science, Vol. 40, July–August, 996-1003.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Farklı Münavebe Tekniklerinin Bitkisel Üretim ve Çevre Üzerine Etkileri

Ömer Faruk BÜYÜKTAVŞAN<sup>1\*</sup>, İsmail NANELİ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fide Fidan Test Merkezi Müdürlüğü, Karacabey/Bursa

<sup>2</sup> Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Arifiye/Sakarya

### ÖZ

Çalışmada, tarımsal üretim gerçekleştiren üreticilerin üretim sahasında ürünlerinden istenilen seviyede verim ve kalite elde etmek amacıyla hangi tekniklerle üretim yapacağı, hangi münavebe tekniklerini kullanacağı, münavebe sistemlerinin seçimi, ürünlerin raf ömrü ve pazarlama durumları önemli konulardır. Üreticiler, üretim gerçekleştirecekleri tarım alanlarında yüksek gelir sağlayan ürün desenini sağlamak için bölgeye uygun münavebe sistemini belirlemeyi hedeflemektedirler. İlave olarak, toprak verimliliğini ve toprak kalitesini de dikkate almak durumundadırlar. Ürün seçimi, üretim yöntemleri ve münavebe için bitki seçimi üreticilerin bilgi seviyeleri ve alışkanlıklarına göre üretimlerini yönlendirebilmektedir. Üreticilerin münavebeye aldığı bitkilerden elde ettikleri ürünlerin arz-talep ile oluşan piyasa dengesine göre elde edecekleri gelirler değişebilmektedir. Üreticilerin bölgeye adaptasyonu yüksek bitkileri münavebeye almalıları verimliliği dolayısıyla gelir seviyelerini artırmaya yardımcı olacaktır. Üreticilerin münavebe için bitki seçimi, münavebe sistemi, toprak işleme yöntemini belirlemeye yönelik tutum ve davranışlarının gerçekleştirilecek araştırmalar ile saptanması gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı; tarım alanlarında üreticilerin bölgeye uygun, adaptasyon seviyesi yüksek bitkiler ile uygun alanlarda münavebe yapmak ve münavebe sistemlerini belirlemeye yardımcı olmaktadır. Araştırma ile ilgili dünyada ve ülkemizde yapılan birçok çalışma ele alınmıştır. Yapılan çalışmalar doğrultusunda önemli sonuçlar elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bitki, Kalite, Münavebe, Münavebe teknikleri, Verim.

## Effects of Different Rotation Techniques on Crop Production and Environment

### ABSTRACT

In study, which techniques will be used by agricultural producers in order to obtain the desired level of efficiency and quality from their products in the production field, which rotation techniques will be used, the selection of rotation systems, the shelf life of the products and their marketing status are important issues. Producers aim to determine the appropriate rotation system for the region in order to provide a high income product pattern in the agricultural areas where they will produce. In addition, they have to take into account soil fertility and soil quality. Product selection, production methods and plant selection for rotation can direct their production according to the knowledge levels and habits of the producers. The revenues of the producers may vary according to the market balance formed by the supply and demand of the products they obtain from the plants they alternate. The producers' rotation of plants with high adaptation to the region will help increase productivity and thus income levels. The attitudes and behaviors of the producers for the selection of plants for rotation, the rotation system, and the method of tillage should be determined by the researches to be conducted. The aim of this research; in agricultural areas, it helps the producers to rotate with plants with high adaptation level suitable for the region and determine the rotation systems. Many studies related to the research in the world and in our country have been examined. Important results have been obtained in line with the researches carried out.

**Keywords:** Plant, Quality, Rotation, Rotation techniques, Yield.

\* Corresponding Author's email: omerbuyuktavsan@gmail.com

## 1. Giriş

Tarımsal üretim yapılan alanlarda üreticiler üretim maliyetinin az, yüksek verim ve kaliteye sahip, kârlılığın yüksek olduğu ürünler üretmeyi amaçlamaktadır. Üretim aşamasında üretilen ürünlerin raf ömrünün kısalmadan pazarlanacağı, toprak kalitesinin azaltılmadan verimli ve kaliteli ürün elde etmek için uygulanacak münavebe yöntem ve tekniklerinin belirlenmesi [1] hususları son derece önem taşımaktadır. Üretilen ürünlerde yıldan yıla değişen ürün maliyet ve satış fiyatlarında üreticinin kâr zarar durumu göz önünde bulundurularak farklı ürün yetişiriciliğinin yapılması üretici açısından zarar riskini asgâri seviyeye indirgemecektir. Üretim alanlarında üretimi gerçekleştirilecek ürünlerin toprak kalitesine olumsuz etkisi olmayıp, ürün verim ve kalitesini artırmak amacıyla yetişiriciliğinin yapılması faydalayacaktır.

Bitkilerin birbirini takip edecek şekilde ve belirli bir sıra ile yetişirilmesi ekim nöbeti, münavebe veya rotasyondur [2, 3]. Ekim nöbeti sistemiyle ürün yetişiriciliği; ürün artıklarının (baklagiller v.b) toprak kalitesini artırmasını, hastalık ve zararlı organizmaları azaltması bakımından son derece önemlidir. İlave olarak elde edilen ürünlerin verim ve kalite özelliklerine olumlu etkilerde bulunmaktadır. Ekim nöbeti (münavebe) monokültür tarıma göre; toprak kalitesi korunabilmekte, hastalık ve zararlı etkisi ile çevre ve toprak kirliliği azalmakta, ürünler topraktaki mikro ve makro besin elementlerinden daha iyi faydalananabilemeyecektir, elde edilen ürünlerin verim ve kalitesi artırılabilir.

Münavebe uygulaması kadar bölge koşullarına uygun münavebe sisteminin belirlenmesi de son derece önemli bir husustur. İklim şartları, toprak yapısı, bitki özellikleri, hastalık ve zararlı, yabancı ot, ulaşım, depolama, pazarlama gibi faktörler münavebe sistemlerinin belirlenmesinde etkin rol oynamaktadır [4]. Münavebe sistemi uygulayan üreticilerin ürünlerden elde ettikleri gelir dönemsel olarak arz-talep yapısı doğrultusunda değişiklik gösterebilmektedir. Ürün desenlerinin belirlenmesi, yörelere özgü ürünlerin yetişirilmesi, bölgelere uygun tarım politikalarının oluşturulması ve uygulanması ürün verimliliği açısından yüksek seviyede katkı oluşturabilecektir. Münavebe ve münavebe sistemlerinin üreticilere sağladığı katkılar ile ilgili dünyada ve ülkemizde farklı araştırmacılar tarafından yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27].

Bölgelerde mevcut hastalık, zararlı ve yabancı ot münavebe sisteminin belirlenmesinde önemli bir göstergedir. Bu araştırmmanın amacı, tarım arazilerinde uygulanan münavebe tekniklerini belirlemek ve münavebe sistemlerinin önemini ortaya koymaktır.

## 2. Ekim Nöbeti (Münavebe) Uygulaması ve Etkileri

Münavebe uygulaması farklı bitkilerin birbirini takip edecek şekilde ve belirli bir sıra ile aynı tarlada yetişirilmesi olup, sabit ve değişken (yıllara göre) özellik göstermektedir. Sabit ekim sisteminde bitkiler düzenli bir sıra ile birbirini takip ederler ve belirli bir yılda ekim nöbeti tamamlanır. Değişken ekim nöbeti sisteminde ise, bitkiler belirli bir sıra ile birbirini izler. Ancak yıllara göre değişkenlik gösterirler.

### 2.1. Ekim nöbeti (Münavebe) planlanması dikkat edilmesi gereken noktalar

- Ekim nöbetinde yer alan bitkilerin üreticinin gelir düzeyini düşürmeyecek verimi sağlayacak yüksek ekonomik seviyede olmalıdır.
- Yetişirilmesi sırasında hiçbir sorun çıkartmayan bölgeye uygun bitkilerin seçilmesidir. Elde edilen ürünün satışının ve değerlendirilmesinin kolay olması da göz önünde tutulması gereklidir.

- Seçilen bitkilerin özel alet ve makine gereksinimi olmamalı ve işletmeye ekonomik yönden önemli bir yük getirmemesi gerekmektedir.
- Bölgede ana ürün olarak yer alan bitkinin ekim nöbeti uygulaması ile veriminde azalmanın meydana gelmemesi gerekmektedir.

### **3. Münavebe (Ekim nöbeti) Sistemlerinin Bitki ve Toprak Verimliliği Üzerine Etkileri**

Toprak verimliliğini azaltıcı yönde etkide bulunan taşınan bitkiler (çapa bitkileri, tahıllar v.b) ile toprak verimliliğine doğrudan olumlu yönde iyileştiren etkisi bulunan taşıyan bitkiler (baklagil v.b) ekim nöbetinde yer alan bitkiler olarak iki grupta incelenirler.

Genellikle bitki artıklarının toprakta humusa dönüşerek toprak kalitesini artırdığı bilinmektedir. Toprak artıklarının parçalanarak humusa dönüşüm hızları bileşimlerindeki C/N ile saptanmaktadır. Hasat artıklarının mikrobiyolojik olarak kısa sürede parçalanabilmesi için C/N oranının yaklaşık 20/1 düzeyinde olması gerekmektedir. Bu orana sahip bitki artıklarının bünyelerinde yaklaşık %2 oranında N'lu bileşik bulunmaktadır. Toprağa C/N oranı yüksek (tahıllar gibi C/N = 80/1) bir kalıntı ilave edilirse toprakta mevcut N için rekabet oluşmaktadır. Bu sebeple C/N oranı düşük olan baklagiller (C/N=15/1) gibi bitkiler ile münavebe işleminin gerçekleştirilmesi toprak kalitesini artıracaktır [28]. Baklagillerin ekim nöbetinde yer alması ile bu bitkilerin hasat artıklarındaki azot miktarının yüksekliği mikroorganizmaların hızla çoğalarak sayılarının artmasını sağlayacaktır [29].

Ekim nöbeti uygulanmayan monokültür şeklinde üst üste tahlil yetişirilen tarlalarda mikroorganizmaların çoğalabilmeleri için toprakta yeterince organik içerikli azotlu bileşik bulamadıkları zaman bitkilere gübre olarak verdigimiz inorganik N'lu bileşikleri kullanırlar. Gübre olarak verdigimiz N, bitkiler tarafından alınmadan mikroorganizmalar tarafından kullanılır. Örneğin misir (*Zea mays L.*) topraktan bol miktarda azot, yonca (*Medicago sativa L.*) fosfor, üçgül (*Trifolium L.*) kalsiyum tüketir. Ekim nöbetiyle bu sorun ortadan kaldırılır. Ülkemizde ve dünyada yapılan bazı münavebe çalışmalarında: Geleneksel ve doğrudan ekim yöntemleri ile Buğday – Buğday, Nohut – Buğday, Nadas – Buğday – Nohut – Buğday, Nohut – Buğday – Nadas – Buğday ve Kontrol münavebe uygulamaları toprak yapısına etkisi pozitif ve önemli ölçüde değişiklik göstermiştir [30]. Orta Anadolu koşullarında Yazlık Mercimek-Kışlık Buğday ekim nöbetinde toprak hazırlık yöntemlerinin ürün verimine etkilerinin incelendiği çalışmada en yüksek mercimek veriminde sonbaharda pulluk, ilkbaharda kazayağı + tırmık kombinasyonu toprak işleme ile elde edilmiştir [31]. Yarı kurak ve yarı nemli Latin Amerika topraklarında, aynı arazilerde yoğun tahlil, pamuk ve yağlı tohumlu bitkilerin yetiştiriciliği sonucunda toprak yapısında bozulmalar olduğu saptanmıştır [32]. Orta Anadolu koşullarında buğdayda farklı ekim nöbeti sistemlerinin verime etkileri incelenmiştir. Kışlık Buğday – Kışlık Mercimek, Kışlık Buğday – Yazlık Mercimek, Kışlık Buğday – Nohut, Kışlık Buğday – Açıçeği, Kışlık Buğday – Kışlık Buğday ve Nadas uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Araştırmada en yüksek kışlık buğday verimi Nadas – Buğday ekim nöbetinde görülmüştür [33]. Çeltik - Buğday ekim nöbeti toplam işletme malyetinin %79 oranında azaldığını tane verimin ise %20 oranında arttığı belirlenmiştir [34]. Buğdaygil + Baklagil - Buğday münavebe yönteminin incelendiği çalışmada topraktaki bazı özelliklerin iyileştiği belirlenmiştir [35].

### **4. Sonuç**

Dünyada ve ülkemizde münavebe uygulamalarında kullanılacak bitki ve münavebe sistemlerinin bitkilerde verim ve kalite üzerine olumlu etkileri hususunda ayrıntılı bilgiler verilmiştir. İlave olarak, özellikle baklagil bitkilerinin münavebeye alınmasıyla bitki artıklarının toprakta hızlı bir sürede parçalanarak humusa dönüşmesi, toprak organik maddesini artırması, toprak N içeriğini yükselmesi

gibi toprak kalitesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır. Özellikle ülkemizde farklı bölgelerde verim ve kalite bakımından ön plana çıkan, toprak kalitesine olumlu etkilerde bulunan münavebe sistemlerinden bahsedilmiştir. Yapılan araştırmaların münavebe sistemlerinde genel olarak buğday, aycıceği, mercimek, nohut bitkileri kullanılmıştır. Üreticiler genel olarak ikili münavebe sistemlerini tercih etmekte olup, monokültür tarımda ise üreticiler genellikle buğday bitkisi kullanırlar.

Monokültür tarımın olumsuz etkilerini gidermek için bölgelere uygun münavebe sistemleri uygulanmalı ve planlanmalıdır. Bölgelere uygun, adaptasyon kabiliyeti yüksek bitkiler ile münavebe sistemi planlanırken bitki tür ve çeşitlerinin özellikleri, toprak yapısı, iklim koşulları, yabancı ot, hastalık ve zararlı, yayılma durumu, ulaşım, depolama ve pazarlama özellikleri mutlaka dikkate alınmalıdır. Tarımsal üretim gerçekleştirilen alanlarda yapılacak münavebe uygulamalarında toprağın su tutma kapasitesi ve organik maddesi artırılmalı, toprak verimliliği yükseltilmeli, bu bağlamda kültür bitkilerine elverişli ortam sağlanmalıdır. Münavebe ile işletmelerde işgücü planlaması yapılmaktadır. Bitkilerin vejetasyon süresi boyunca ekim, bakım, hasat, harman ve ekim öncesi toprak hazırlık süreçleri gibi işlemler verimli bir şekilde aksamadan uygulamalar gerçekleştirilebilecektir.

Sonuç olarak, münavebe teknikleri ile bitkisel üretimler sırasında meydana gelecek risklerin minimuma indirilmesi ve maksimum verim sağlanması mümkün olur.

## Kaynaklar

- [1] İşin, Ş. (2001). Ege Bölgesinde Seçilmiş Bir Yöredeki Karma Tarım İşletmelerinde Üretim Dallarının Seçim Esasları Üzerine Bir Araştırma, TZOB Yayın No:215, Ankara.
- [2] Elçi, Ş., Kolsarıcı, Ö., ve Geçit, H.H. (1994). Tarla Bitkileri (2. Baskı). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:1385, Ankara.
- [3] Örük, G., Seydoğlu, S., ve Engindeniz, S. (2019). Kurtalan İlçesindeki Buğday Üreticilerinin Münavebe Uygulamalarını Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Uluslararası Tarım ve Kırsal Kalkınma Kongresi 10-12 Haziran, Siirt, 208-215.
- [4] Tigem, (2004). Ekim Nöbeti (Münavebe) ve TİGEM Bitkisel Üretimlerinde Kar-Zarar Değerlendirmeleri, Broşür, Ankara.
- [5] Jus, R.E. (1980). An Application of Spectral Analysis in Determining Crop Rotation Frequencies, Canadian Journal of Agricultural Economics, 28(1):71-80.
- [6] El-Nazer, T., and McCarl, B.A. (1986). The Choice of Crop Rotation: A Modeling Approach and Case Study, American Journal of Agricultural Economics, 68(1):127-136.
- [7] Painter, K., Gronatstein, D., and Miller, B. (1992). Alternative Crop Rotation Enterprise Budgets: Eastern Whitman County, Washington, Farm Business Management Reports-EB1725, Cooperative Extension, Washington State University, Washington, USA.
- [8] Herbel, K.L., and Williams, J.R. (1993). Profitability of a Resource-Concerving Crop Rotations: An Analysis for a Central Kansas Farm, Journal of Sustainable Agriculture, 2(4):31-45.
- [9] Gebremedhin, B., and Schwab, G. (1998). The Economic Importance of Crop Rotation Systems: Evidence from the Literature, Staff Paper No. 98-13, Department of Agricultural Economics, Michigan State University, Michigan.
- [10] Peel, M., Berglund, D., Cattanach, A., Dexter, A., Gregoire, T., Endres, G., Asley, R., and McKay, K. (1998). Crop Rotations for Increased Productivity, Nort Dakota State University, Report No.EB-48, Nort Dakota, USA.
- [11] Smith, E. G., Heigh, L., Klein, K. K., Moger, J., and Blachshaw, R. E. (2001). Economic Analysis of Cover Crops in Summer Fallow-Crop Systems, Journal of Soil and Water Conservation, 56(4):315-321.

- [12] Martin, S. W., Cooke, F., and Parvin, D. (2002). Economic Potential of a Cotton-Corn Rotation, Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station Bulletin-1125, Mississippi.
- [13] Nel, A. A., and Loubser, H. L. (2004). The Impact of Crop Rotation on Profitability and Production Risk in the Eastern and North Western Free State, *Agrekon*, 43(1):101-111.
- [14] Salassi, M. E., Deliberto, M. A., and Webster, E. P. (2008). Evaluating the Economic Impact of Crawfish Production on the Rice Enterprise:in a Rice/Crawfish Crop Rotation System, Staff Report No. 2008-04, Department of Agricultural Economics & Agribusiness, Louisiana State University, Louisiana.
- [15] Martin, S. W., and Hanks, J. (2009). Economic Analysis of No Tillage and Minimum Tillage Cotton-Corn Rotations in the Mississippi Delta, *Soil & Tillage Research*, 102(2009):135-137.
- [16] Thirwall, B. (2009). Good Crop Rotations Maximize Yield Potential and Income Per Acre, Canadian Certified Crop Adviser Reports, Ontario, Canada.
- [17] Bağcı, S. A., Hekimhan, H., Arısoy, R. Z., Taner, A., Büyükkök, O., Nicol, J., ve Aydoğdu, M. (2010). Farklı münavebe sistemlerinin hububat kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalığı üzerine etkisi Bitkisel Araştırma Dergisi, 2: 25–30.
- [18] Khakbazan, M., Mohr, R. M., Volkmar, K. M., Tomasiewicz, D. J., Moulin, A. P., Derksen, D. A., Irvine, B., McLaren, D. L., and Montreal, M. A. (2010). The Economics of Irrigated Potato Crop Rotation in Manitoba, *American Journal of Potato Research*, 87(5):446- 457.
- [19] Berg, F. V., Gilligan, C. A., Gerdessen, J. C., Gregoire, L. A., and Bosch, F. V. (2010). Optimal Weed Management in Crop Rotations: Incorporating Economics is Crucial, *Weed Research*, 50(5):413-424.
- [20] Mahboobi, M. R. (2010). Analysis of the Influential Factors on the Crop Rotation Implementation by the Farmers Case Study: Gorgan Township, *World Applied Sciences Journal*, 10(4):454-461.
- [21] Cavigelli, M. A., Hima, B. L., Hanson, J. C., and Teasdale, J. R. (2019). Long-term economic performance of organic and conventional field crops in the mid-Atlantic region, *Renewable Agriculture and Food Systems*, 24 (2):102-119.
- [22] Woźniak, A., Nowak, A., Haliniarz, M., and Gaweda, D. (2019). *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(4):1-8.
- [23] Kızılıoğlu, S. (1989). Oltu İlçesi Tarım İşletmelerinde Münavebe-İşletme Faaliyeti İlişkileri ve En Karlı Üretim Planının Belirlenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [24] Kızılıoğlu,S., ve Karagölge, C. (1990). Oltu İlçesi Tarım İşletmelerinde Münavebe Uygulaması ve Etkileri, DOĞA Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, 14 (4):475-492.
- [25] Kasırga, O. (1992). Menemen Ovası Kesirköy ve Civarında Sulu Tarım Şartlarında Model Bir İşletmede Bazı Nöbetleme (Münavebe) Sistemlerinin Ekonomik Yönden Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [26] Yağdı, K., ve Çetin, B. (1999). Bursa İlinde Kuru ve Sulu Koşullarda Ekonomik Bakımdan En Uygun Ekim Nöbeti Sisteminin Araştırılması, III. Tarla Bitkileri Kongresi, 15-20 Kasım 1999, Adana.
- [27] Altürk, D. (2007). Polatlı İlçesi Tarım İşletmelerinde Münavebede Yer Alan Başlıca Ürünlerde İşletme Sermayesi Talebi ve Kredi Kullanımının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [28] Aydın, M., ve Kılıç, Ş. (2020). Toprak bilimi. Nobel Akademik Yayıncılık. ss:136. ISBN: 978-605-133-642-8.
- [29] Bolat, İ., Şensoy, H., ve Özer, D. (2016). Fiğ (*Vicia sativa L.*) ve Yonca (*Medicago sativa L.*) ekimi yapılan toprakların mikrobiyal biyokütle C ve N içeriklerinin değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 66(1): 244-255.

- [30] Karadağ, M. (2015). Farklı münavebelerde doğrudan ve geleneksel ekim yöntemlerinin toprağın bazı fiziksel özellikleri üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya.
- [31] Avcı, M., ve Ataman, Y. (1989). Yazlık mercimek-kışlık buğday ekim nöbetinde toprak hazırlığı yöntemlerinin toprak fiziksel özellikleri ve ürünlerin verimlerine etkileri. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara.
- [32] Gil, L. R., and Albornoz, A. (1996). Experimental adaptation of a seeder to direct seeding. *Agronomia Tropical Maracay*, 45 (1), 73-84.
- [33] Çaycı, G., Heng, L. K., Öztürk, H. S., Sürek, D., Kütük, C., ve Sağlam, M. (2009). Crop yield and water use efficiency in semi-arid region of Turkey, *Soil and Tillage Research*, 103 (1); 65-72.
- [34] Arshad, M., Ahmad, S., and Kausar, A. G. (1991). Wheat productivity through zero tillage adaptation in rice-wheat system in FTR Project area Shahkot. *Journal of Agricultural Research Lahore*, 29:2, 265-269.
- [35] Ledvina, R. (1992). Study of the physical properties of Cambisol in zero-tillage seeding of winter wheat. *Rostlinna-Vyroba*, 38 (7), 561-565.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## A Research on Micropagation of *Loropetalum chinense*

Neslihan BABALI<sup>1\*</sup>, Taki DEMİR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sakarya University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Sakarya/Turkey

<sup>2</sup> Sakarya University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Sakarya/Turkey

### ABSTRACT

The ornamental plant sector has been increasing rapidly in the world and in Turkey in recent years. It is aimed to develop micropagation protocols of *Loropetalum chinense* (Chinese fringe flower), which are increasingly used in our country and are difficult to produce with traditional methods. For this purpose, from the MS and DKW media which are used commonly; MS-Mod and DKW-Mod media prepared considering the soil requirements of the plants were used for this plant. In *Loropetalum chinense* media experiments, the best number of shoots per explant (1.76 shoots/explant) was produced on DKW with 1 mg L<sup>-1</sup> of BAP. Also It was determined that the MS-Mod media with 1.00 mg L<sup>-1</sup> BAP (1.63 shoots/explant) is suitable for *Loropetalum chinense* micropagation. According to the results obtained in the study, the nutrient media that can be used for micropagation were determined for the plant *Loropetalum chinense* (Chinese fringe flower).

**Keywords:** Chinese fringe flower, Clonal propagation, *Loropetalum chinense*, Micropagation, Plant media, Tissue culture.

### *Loropetalum chinense* Mikroçoğaltım Araştırması

### ÖZ

Süs bitkileri sektörü son yıllarda Dünya'da ve Türkiye'de hızla artmaktadır. Ülkemizde kullanımı gittikçe yaygınlaşan ve geleneksel yöntemlerle üretilmesi zor olan *Loropetalum chinense* (Çin püskülü) mikroçoğaltım protokollerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan MS ve DKW ortamından bitkilerin toprak ihtiyaçları dikkate alınarak hazırlanan MS-Mod ve DKW-Mod besiyeri kullanılmıştır. *Loropetalum chinense* ortam denemelerinde, eksplant başına en iyi sürgün sayısı (1.76 sürgün/eksplant) 1 mg L<sup>-1</sup> BAP ile DKW ortamında görülmüştür. Ayrıca 1.00 mg L<sup>-1</sup> BAP (1.63 sürgün/eksplant) içeren MS-Mod ortamının *Loropetalum chinense* mikroçoğaltım için uygun olduğu belirlenmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara göre *Loropetalum chinense* (Çin püskülü) bitkisi için standart ortamlar dışında da mikroçoğaltım için kullanılabilen besi ortamları tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çin püskülü, Klonal çoğaltım, *Loropetalum chinense*, Mikroçoğaltım, Besi ortamı, Doku kültürü.

### 1. Introduction

*Loropetalum chinense* (Chinese Fringe Flower), evergreen shrub that belongs to the family of *Hamamelidaceae* [1]. Its natural distribution area covers the area extending from the south of China to the east of India, especially with Hunan province being the center in China [2, 3, 4, 5]. After being

\* Corresponding Author's email: neslihanb@subu.edu.tr

cultivated in other provinces of China except Hunan, it was promoted in countries such as America and Japan, and quickly entered the ornamental plants sector [3]. The leaves, flowers and roots of the plant are known to be used in traditional Chinese medicine for the treatment of many diseases. It is known to have antipyretic, hemostatic and detoxifying properties. It is also used in the treatment of bleeding disorders, burn treatment, skin infections, various gynecological diseases, dysentery and diarrhea. It has various properties such as antioxidant, anti-inflammatory and bacteriostatic with the tannins it contains [1, 4, 6]. The most widely used method in the production of perennial ornamental plant species is vegetative production method. Irregular collection of plants from natural flora by humans, shrinkage of ecological area due to urbanization, global warming and increase in global transportation threaten plant species. For this reason, it is very important to spread the plant tissue culture method instead of traditional production [7]. Today, many plant species are cultivated for these purposes and grown as ornamental plants [8]. Tissue culture; It is defined as the production of a new plant, tissue or various secondary metabolites from the cell, tissue or organ taken from the plant in sterile and controlled conditions, in artificial nutrient media [9]. It is widely used because it provides faster production compared to traditional plant breeding techniques [10]. Thus, the reproduction of endangered, endemic, economically valuable, genetically and productively superior individuals is provided. Quality, fast and virus-free, disease-free plants can be produced [11]. *Loropetalum chinense* is a very difficult plant that can be grown by seed or vegetative methods. *Loropetalum chinense* last 5 years with different specifications required in Turkey and is therefore one of the most imported ornamental plants. However, the difficulties in its production can be overcome with tissue culture [12]. In this study, it is aimed to develop *Loropetalum chinense* tissue culture and micropropagation protocols. For this purpose, the effect of different nutrient media in the number of shoots per explant and the average growth performance of growing shoots on plant reproduction were investigated.

## 2. Research Methodology

In this study, *Loropetalum chinense* plant in Sakarya University Plant Tissue Culture Research and Production Laboratory was used in March 2020. The nutrient media used in the study and their contents are given in Table 1. The nutrients were sterilized in autoclave at 121°C for 20 minutes (1 atm). Growth conditions and soil requirements of the plant were taken into account in determining the content of the nutrient media. In order to encourage shoot reproduction, 1.00 mg L<sup>-1</sup> BAP was added to each experimental media considering the literature information. Explants taken from the mother plant were first washed under running tap water for 20 minutes and pre-sterilized with antifungal (Benomyl) for 10 minutes. It was then washed with 20% by volume sodium hypochlorite (ACE) for 15 minutes. Then, after washing with sterile distilled water for 5 minutes and 3 repetitions, they were planted in nutrients. Planting was done with 5 plants in each group. It was cultured for 45 days at 24 ± 2 °C in a 16-hours light photoperiod. All plant trials were set up with 5 replicates and were subjected to Duncan multiple comparison and variance analysis in SPSS statistical program.

## 3. Results and Discussion

In this study, MS-Mod and DKW-Mod nutrient media, which were modified by considering the soil requirements of the plants, based on the commonly used MS and DKW media, were used. In addition, 1.00 mg L<sup>-1</sup> BAP was added to the nutrient media for the plant to propagation.

**Table 1.** Nutrient media and ingredients ( $\text{mg L}^{-1}$  ).

Ingredients	MS	MS-modified	DKW	DKW- modified
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650	500	1416	1416
$\text{KNO}_3$	1900	2000	-	-
$\text{Ca}(\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$	-	1200	1968	1968
$\text{K}_2\text{SO}_4$	-	-	1559	1559
$\text{MgSO}_4$	181	370	740	740
$\text{CaCl}_2$	333	-	147	147
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170	170	259	259
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	33.80	42.25	-
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	37.26	45.40	56.75	-
<b>EDDHA-Fe</b>	-	-	-	168
$\text{Na}_2\text{MoO}_4$	0.25	0.39	0.40	0.40
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25	0.25	0.25
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2	4.8	12.4	12.4
$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	16.9	17	26.7	26.7
$\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8.6	33.5	33.8	33.8
$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5	5	5	5
Glycine	2	2	2	2
Nikotinik acid	0.5	1	1	1
Thiamine HCl	0.1	2	2	2
My-inositol	1	1	1	1
L-glutamine	1	-	1	-

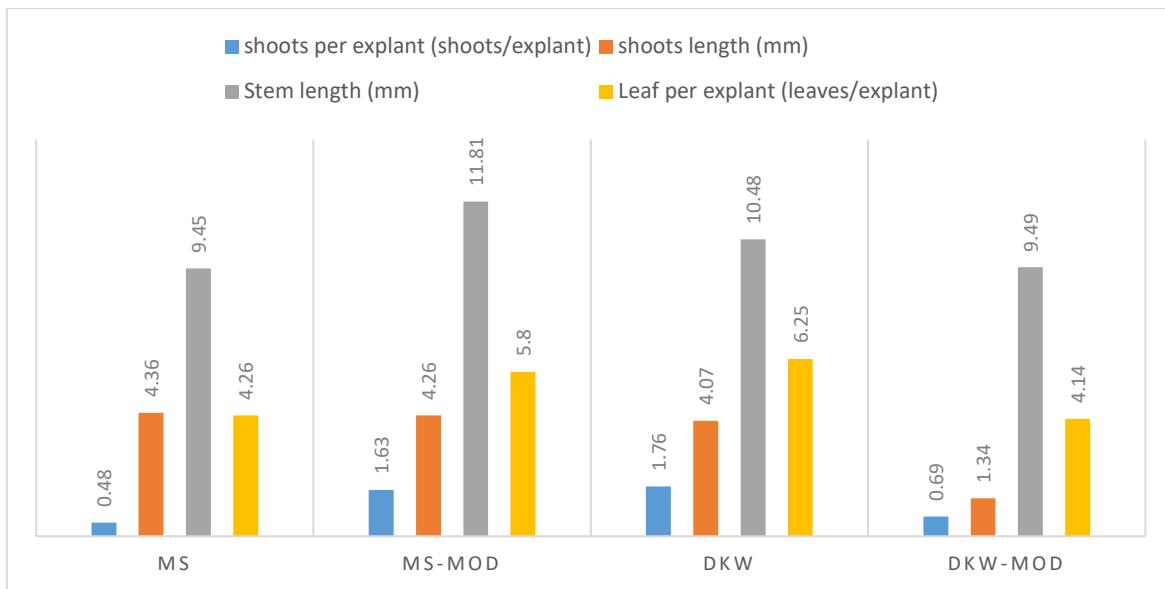
**Table 2.** *Loropetalum chinense* shoot per explant development.

Plant media	Shoots per explant (shoots/explant)	Shoots length (mm)	Stem length (mm)	Internode (mm)	Leaf per explant (leaves/explant)
MS	0.48 <sup>b</sup>	4.36 <sup>a</sup>	9.45 <sup>c</sup>	2.89 <sup>ns</sup>	4.26 <sup>b</sup>
MS-Mod	1.63 <sup>a</sup>	4.26 <sup>a</sup>	11.81 <sup>a</sup>	2.91 <sup>ns</sup>	5.80 <sup>a</sup>
DKW	1.76 <sup>a</sup>	4.07 <sup>a</sup>	10.48 <sup>b</sup>	2.78 <sup>ns</sup>	6.25 <sup>a</sup>
DKW-Mod	0.69 <sup>b</sup>	1.34 <sup>b</sup>	9.49 <sup>c</sup>	2.62 <sup>ns</sup>	4.14 <sup>b</sup>

a-c: The difference between the samples in the same column is statistically significant ( $P<0.01$ ).

In Table 2, the highest number of shoots per explant was obtained from DKW media with 1.76. It was determined that there was no significant difference between DKW and MS-Mod media in terms of the number of shoots per explant. The highest shoot length per explant was 4.36 mm from MS media. It was determined that there was no significant difference between MS, MS-Mod and DKW media in terms of shoot size per explant. As the number of shoots per explant increased, shoot length decreased (Figure 1).

In Table 2, the highest body length with 11.81 mm was obtained from MS-Mode media. No statistically significant difference was found between environments in terms of internode length. The number of plant leaves was obtained from DKW media with maximum 6.25 pieces. It was determined that there was no significant difference between MS-Mod and DKW media in terms of leaf number. The most suitable growth media for *Loropetalum chinense* was determined as DKW media. Since their development in the MS-Mod media is close to the desired level, it has been determined that this media can be used as an alternative in reproduction (Figure 2-5).



**Figure 1.** *Loropetalum chinense* plant and shoot development per explant.

[13], in their study on the pollen germination percentage of *Loropetalum chinense*, they found that  $B^{+3}$  and  $Ca^{+2}$  increased by 58.47% in tissue culture media. In this study, both shoot and plant growth of the explant was high in the nutrient media with high  $B^{+3}$  and  $Ca^{+2}$  amounts. [14], it has been reported that in *Loropetalum chinense* callus culture, the most suitable media is MS media containing 2.00 mg L<sup>-1</sup> NAA and 0.50 mg L<sup>-1</sup> BA. However, it has also been reported that there is better callus development in MS media containing 1.50 mg L<sup>-1</sup> NAA in dark environmental condition. This study does not show similarity with the test results used for meristem culture. [15], *Loropetalum chinense* in the vitrification studies, BA, NAA, activated carbon, sugars, have found that reducing the vitrification of heavy use. In this study, no vitrification problem was observed in any of the plants due to the use of BAP as cytokinin. [16], it has been reported that the most suitable media for *Loropetalum chinense* haploid callus culture is Gamborg B5 media containing 2.50 mg L<sup>-1</sup> NAA, 0.50 mg L<sup>-1</sup> BA and 30 g L<sup>-1</sup> sucrose. The plant showed different growth in different methods because of micropropagation method used in our research.

At the end of the culture period, the plants and shoots were extended for 15 days in MS media containing 0.10 mg L<sup>-1</sup> BAP and 20 g L<sup>-1</sup> sugar. Then it was rooted for 7 days in 1/2 MS media containing 1.00 mg L<sup>-1</sup> IBA. When rooting started, it was planted in copeat plates (Figure 5). And pre-conditioning was done in a plant tissue culture greenhouse.

#### 4. Conclusions

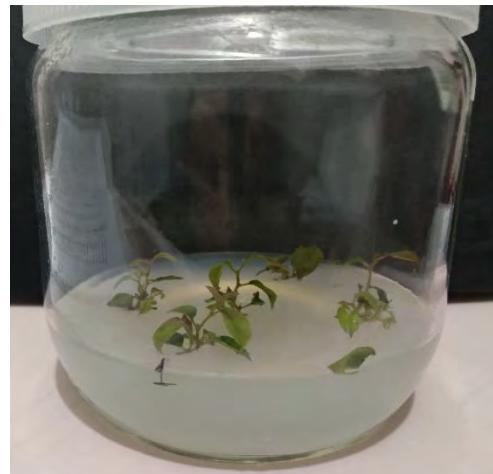
Successful results have been obtained from modified nutrient media prepared by considering soil requirements. This shows that it is important to meet the natural requirements of the plant in micropropagation. Accordingly, instead of standard nutrient media, the media prepared according to the plant's requirements for each plant species give more successful results in micropropagation.

#### Acknowledgements

All studies in this research were carried out in the Sakarya University Plant Tissue Culture Research and Production Laboratory as part of the Studies On Micropropagation Of *Nandina domestica* (Heavenly bamboo) and *Loropetalum chinense* (Chinese fringe flower) master's thesis study.



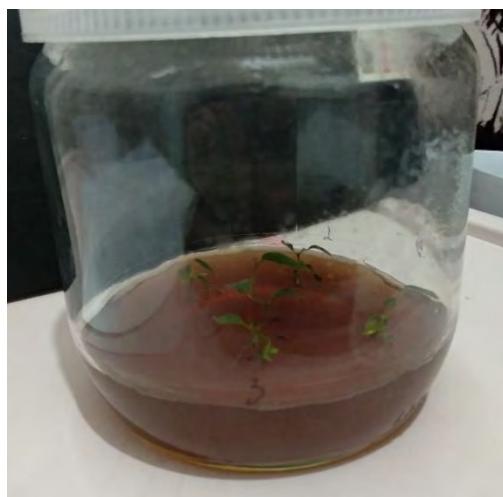
**Figure 2.** *Loropetalum chinense* is in 60 ml MS media containing 1.00 mg L-1 BAP (Orginal, March 2020).



**Figure 3.** *Loropetalum chinense* is in 60 ml MS-Mod media containing 1.00 mg L-1 BAP (Orginal, March 2020).



**Figure 4.** *Loropetalum chinense* is in 60 ml DKW media containing 1.00 mg L-1 BAP (Orginal, March 2020).



**Figure 5.** *Loropetalum chinense* is in 60 ml DKW-Mod media containing 1.00 mg L-1 BAP (Orginal, March 2020).



**Figure 6.** *Loropetalum chinense* is in cocopeat plate. (Orginal, May 2020).

## References

- [1] Chen, H. L. (2018). Isolation And Identification Of The Anti-Oxidant Constituents From *Loropetalum chinense* (*R. Brown*) Oliv. Based On UHPLC–Q-TOF-MS/MS. Molecules, 23(1720), 2-15.
- [2] Gawel, N. J. (1996). Identification Of Genetic Diversity Among *Loropetalum chinense* var. *rubrum* Introductions. J. Environ. Hort., 14(1), 38-41.
- [3] Bao, Z. C. (2007). Variation In Morphological Traits Among *Loropetalum chinense* var. *rubrum* Accessions. HORTSCIENCE, 42(2), 399-402.
- [4] Zhang, Q. F. (2013). Isolation Of New Flavan-3-Ol And Lignan Glucoside From *Loropetalum chinense* And Their Antimicrobial Activities. Fitoterapia, 90, 228-232. doi:10.1016/j.fitote.2013.08.003
- [5] Gong, W. L. (2016). From Glacial Refugia To Wide Distribution Range: Demographic Expansion Of *Loropetalum chinense* (Hamamelidaceae) In Chinese Subtropical Evergreen Broadleaved Forest. Org Divers Evol, 16, 23-38.
- [6] Zhou, X. X. (2011). A New Lignan From The Leaves Of *Loropetalum chinensis*. Chemistry Of Natural Compounds, 47(5), 690-692.
- [7] Demirbaş, A. R. (2010). Süs Bitkileri Yetiştiriciliği. Samsun: Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayımları.
- [8] Aygün, G. (2015). Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin *Anthurium andeanum* L. Türünün İki Çeşidinin Mikroçoğaltımı Üzerindeki Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [9] Babaoglu, M. G. (2001). Bitki Biyoteknolojisi 1 Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayımları.
- [10] Hamidi Birecikli, A. (2018). Balcı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşidinin Mikroçoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi. Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [11] Düber, E. (2010). *Origanum Onites* Ve *Origanum Majorana* Bitkileri İle Meristem Kültürü Kullanılarak Stres Fizyolojisi Çalışması. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [12] Bajpai, V. K. (2019). Antioxidant And Antimicrobial Efficacy Of A Biflavonoid, Amentoflavone From *Nandina Domestica* In Vitro And In Minced Chicken Meat And Apple Juice Food Models. Food Chemistry, 239-247.
- [13] Tang, Q. Z. (2005). Factors Effecting Pollen Germination Percentage Of *L.chinensis* var *rubrum* And *L.chinensis*. Hunan Forestry Science And Technology, 4.
- [14] Wang, H. T. (2006). Studies On Callus Inducing Of *Loropetalum chinense* var.*rubrum*. Journal Of Yueyang Vocational Technical College, 6.
- [15] Yin, H. T. (2008). A Preliminary Study On The Tissue Culture To Overcome The Vitrification Of *Loropetalum chinense* Oliver var *rubrum* Yieh. Journal Of Jiangsu Forestry Science & Technology, 3.
- [16] Li, Y. Y. (2011). Induction And Cultivation Of Haploid Callus Of *Loropetalum chinense* var. *rubrum*. Journal Of Hunan Agricultural University, 37(6), 632-636.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Karboksidotrofik Mikroorganizmaların Karbonmonoksit Dehidrojenazları

Melis ÇOKDİNLEYEN<sup>1</sup>, Bilge Hilal ÇADIRCI EFELİ<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Departmanı, İzmir

<sup>2\*</sup> Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Departmanı, Tokat

### ÖZ

Endüstriyel gazlar içerisinde salınan ve kömür gibi yakıtların yanmasıyla açığa çıkan karbonmonoksitin (CO), ilerleyen sanayi ile birlikte çevre kirleticisi olarak doğada konsantrasyonu artmakta ve insanoğlunun sağlığını tehdit etmektedir. Bununla birlikte, yaşamın doğal dengesi içerisinde karboksidotrofik mikroorganizmalar, sahip oldukları karbonmonoksit dehidrogenaz (CODH) enzimleri ile, CO’i karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaktadır. Gerek aerobik gerekse anaerobik koşullarda yaşam formları gösteren bu mikroorganizmalar, çok farklı kofaktörlere sahip çeşitli CODH enzimleri ile yüksek ölçüde toksik CO’ın karbondioksitle ( $\text{CO}_2$ ) dönüşümünü katalizlerler. Böylece, enerji zengini bileşiklerin oluşturulmasında ve küresel karbon döngüsünde karbonun çevreye katılmasıyla önemli potansiyel etkiye sahiptirler. Enzym katalizlediği reaksiyon nedeniyle biyoteknoloji için büyük bir potansiyel sunmaktadır. CO dehidrojenazının kullanılacağı tasarımlar ile, biosensörlerde CO tabanlı probler veya yakıt hücreleri üretilebilir. Bu derlemede endüstriyel olarak oldukça öneme sahip olan CO dehidrojenazlar hakkında bilgi sunulması amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Karboksidotrofik mikroorganizmalar, Karbon monoksit dehidrojenaz, *Morella thermoacetica*

## Carbon Monoxide Dehydrogenases from Carboxidotrophic Microorganisms

### ABSTRACT

Carbon monoxide (CO), released in industrial gases and released by the burning of fuels such as coal, increases its concentration in nature as an environmental pollutant with the advancing industry and threatens human health. However, in the natural balance of life, carboxidotrophic microorganisms use CO as a carbon and energy source with their carbon monoxide dehydrogenase (CODH) enzymes. These microorganisms, which show life forms in both aerobic and anaerobic conditions, catalyze the conversion of highly toxic CO to  $\text{CO}_2$  (carbon dioxide) with various CODH enzymes with very different cofactors. Thus, they have significant potential impact in the creation of energy-rich compounds and the incorporation of carbon into the environment in the global carbon cycle. It offers great potential for biotechnology due to the enzyme catalyzed reaction. With designs using CO dehydrogenase, CO-based probes or fuel cells can be produced in biosensors. In this review, it is aimed to present information about the industrially important CO dehydrogenases.

**Keywords:** Carboxidotrophic microorganisms, Carbon monoxide dehydrogenase, *Morella thermoacetica*

\* Corresponding Author's email: bilgehilal.cadirci@gop.edu.tr

## 1. Giriş

Karbon monoksit (CO), benzin, odun, propan, odun kömürü veya diğer yakıtların yakılmasıyla üretilen rensiz, kokusuz, tatsız bir gazdır. CO endojen veya ekzojen kaynaklı olabilir. Sağlıklı bir bireyde endojen CO<sub>2</sub>'nin ana kaynağı, hem oksijenaz tarafından heme'nin bozunmasından kaynaklanır. CO ekzojen olarak, araçların çalıştırılması, ısınma, kömür enerjisi üretimi ve biyokütle yakma işlemlerinde karşılaşılan eksik yanmanın bir ürünüdür. Volkanik patlamalar, doğal gazların emisyonu, bitki örtüsü ve hayvanların bozulması ve orman yangınları gibi doğal coğrafi olayların tümü, atmosferik CO<sub>2</sub>'ye katkıda bulunur. Küresel CO<sub>2</sub>'nin yaklaşık% 40'ı bu doğal kaynaklardan gelir. Fosil yakıt tüketimi, çöp atma, tütün dumanı ve odun kömürü yangınları gibi insan müdahalesi, küresel CO<sub>2</sub>'nin kalan% 60'ına katkıda bulunur [1].

CO düzeyleri farklı yerlerde önemli ölçüde değişmektedir. Kömür madenleri, ulaşım, kanalizasyon arıtma vb. kapalı ortamlarda çalışanlar artan CO'e maruz kalabilirler ve 100 ppm'den fazla CO'e maruz kalma insan sağlığı için tehdite arz etmektedir [2].

Doğada, karbon fiksasyonunun bilinen altı yolu vardır [3]. Anaerobik koşullar altında, Wood–Ljungdahl yolu baskındır. Bu yolu anahtar enzimleri CO dehidrojenaz (CODH) ve asetil-CoA sentaz (ACS)'dır [4] ve atmosferik CO konsantrasyonun güvenli bir seviyede tutulmasında önemli bir rol oynamaktadırlar [2].

## 2. Karbondioksit Oksidasyonunu Katalizleyen Enzimler (CODH, ACS, CODH / ACS)

CO oksidasyonu katalizleyen ve asetil-CoA sentezini katalizleyen enzimler toplu halde "karbon monoksit dehidrojenaz" (CODHs) olarak adlandırılır. Bu çeşitli nedenlerden dolayı problemlidir. Bu enzimler temelde tersinir olarak iki elektron redoks reaksiyonu(CO + H<sub>2</sub>O ↔ CO<sub>2</sub> + 2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup>) katalizle de [5], CO oksidasyonu ve asetil-CoA sentezi karakter olarak tamamen farklıdır ve Uluslararası Enzim Komisyon Sınıflandırma Düzenlemesine göre sırasıyla oksidoredüktaz (EC 1.2.xx) ve liyaz (EC 4.2.xx) olarak ayrı kategorilerde yer almaktadırlar. Buna ek olarak, bazı CODH'lar ACS etkinliği içermezken bazıları CODH'ın yokluğunda ACS'ı ifadeleyebilir. Her aktivite için CODH, Akseptör oksidoredüktaz, CO oksidaz ve CO<sub>2</sub> reduktaz gibi çeşitli adı vardır. Karışıklığı önlemek için Uluslararası Enzim Komisyonu Sınıflandırma Düzeni ile uygun olan enzim adını kullanmak önemlidir [4].

### 2.1. CO Oksidasyon katalizörleri-CODH'lar

CODH'in Mo-CODH, Ni CODH ve Ni-CODH/ACS olmak üzere üç sınıfı vardır.

#### **Mo-CODH**

CO<sub>2</sub>/CO çifti için orta indirmeye potansiyeline (-558 mV, pH 7.0) sahip olmasına rağmen çok negatiftir. Mo-CODH için en iyi elektron alımı +0.011 V ile 0.043 V arasındaki orta potansiyeldir. Ayrıca karboksidotroflardan gelen CODH'lar bilinen tüm Mo hidrosilazlarla ilişkili bir aktiviteye sahip NADH'ı oksitleyebilir. Ni içeren CODH'ların aksine, Mo enzimler oksijene duyarlı değildir (Ragsdale, 2004). *Oligotropha carboxydovorans*'dan gelen mezofilik enzim ve *O. thermocarboxydovorans*'dan gelen termofilik enzim benzer molekül ağırlığına (230,000–310,000) ve yapıya ( $\alpha\beta\gamma$ ) 2 sahiptir [6]. Karboksidotrofik CODH, klonlanmış ve dizilenmiş plazmid kaynaklı genler tarafından kodlanır. Aktif sitesi molybdopterin sitozin dinükleotide(MCD) bağlı bir Cu içerir [7,8]. Bu CODH'lar, elektron transferindeki katalitik Mo-pterin merkezine katılan ve [2Fe-2S] [9] merkezleri olarak bulunan 2 mol FAD, 8 Fe ve 8 sülfid içermektedir [10]. Molibdenin aktif sitede CO bağladığından kanti, metanol ile enzim aktivasyonunun inhibisyonuna dayanmaktadır. CO üzerinde büyümeye için Mo gereklidir fakat

heterotrofik büyümeye ve Mo antagonisti, tunsgtat ile CO-bağımlı büyümeyen engellenmesi için gerekli değildir [7].

### Ni-CODH

Anaerobik nikel taşıyan CODHlar (Ni-CODH), anaerobik mikroorganizmalarda CO ve CO<sub>2</sub>'in tersinir dönüşümünü katalizleyen, CO<sub>2</sub> fiksasyonu ve enerji korunumundan sorumlu multi-enzim kompleksleridir [11].

*Rhodospirillum rubrum*, *Carboxydothermus hydrogenoformans*, ve *Morella thermoacetica* türlerine ait CODH'lar en yaygın olarak çalışılanlardır ve yapıları, bu proteinlerin her biri için bilinmektedir. Bu üç enzimin yapıları çok benzerdir ve tüm liganlar aktif sitededir. Bunun yanı sıra bazı kalıntıların asit-baz kimyası kolaylaştırmak için aktif sitede muhafaza edildiği ileri sürülmüştür. *R. rubrum* ve *C. hydrogenoformans* CODH'larının ACS alt birimine sahip olmayı sadece CODH'a odaklanmayı sağlar. Buna ek olarak *R. rubrum* için Ni-eksik bir protein holoenzim halinde izole edilen Fe siteleri içermektedir [12]. M-CO üzerine M-OH'ın saldırısı ile bir metale-bağlanmış karbonil, bir metal bağlı hidroksit iyonu ve bir metal karboksilat oluşturulan önemli ortak ara ürünleri vardır.

CODH mekanizmasında, metal merkezinin iki elektron ile indirgendiği ileri sürülmüştür. Ancak CODH'lar, bir metal hidrür ile zayıf bir CO-bağımlı hidrojen gelişim aktivitesine sahiptir. Ne olursa olsun, CODH mekanizması arasındaki temel fark, enzim içinde dış elektron taşıyıcıları bağlayan site ve C kümesi arasında elektron alıcısı olarak B ve D kümelerinin yerleşimi nedeniyle elektron transferinin çok hızlı olmasıdır [13-15].

### Ni-CODH/ACS

CODH'ın X-ışını kristal yapısı beş metal küme (B, C, ve D kümeleri) içeren mantar şeklindeki homodimerik bir enzimi ortaya koymaktadır. Bu iki fonksiyonlu enzimde CODH alt birimleri CO oksidasyonunun (C-kümesi) ve redoks merkezlerinin (B ve D kümeleri) katalitik sitesini içermektedir. ACS alt birimini içeren bölgeler vardır [16] ve yüzeyin 18 °A altında gömülü her bir CODH altbirimi içeriği Ni-4Fe-5S (veya Ni-4Fe-4S) olan C-kümesidir. Bu C-kümesi aynı zamanda bir heterobinukleer NiFe kümeye bağlantılı [3FE-4S] kümesi olarak da görülebilir. Dört şeritli bir paralel β-tabaka ile α-heliksler C-kümesinin bağlanması için yapısal motiflerdir [17]. Bu kümelerde protein ligandlar iki β şeritin arasında konumlanmış halkalar halinde bulunur. Sadece C-kümesindeki Ni merkezi üzerinde Ni merkezine CO sağladığı düşünülen hidrofobik kanal vardır ve çözücü bir kanal diğer substratlara 40'ın üzerinde su molekülü sağlamak için su içermektedir [18].

CO oksidasyonu sırasında üretilen elektronlar B- ve D-kümelerinden oluşan bir tele aktarılır. Her CODH altbirimi bir B-kümesi ve D-kümesi içerirken nitrojenazın demir proteinindeki FeS kümesine benzer iki CODH alt birimi tarafından ortak kullanılır. Bu, C ve D kümeleri arasındaki elektron transferine aracılık etmek için yerleştirilen bitişik alt birimin B-kümesidir. Moleküller yüzeye yakın olan D kümesi muhtemelen CODH ve terminal elektron alıcısı (ferrodoksin, flavodoksin, vs.) arasında elektron transferine aracılık etmektedir. Elektron alıcıları hücresel prosesleri gerektiren diğer enerji çiftlerine indirgenmektedir [19].

Reaksiyonların aynı sırası, asetil-CoA'yı CO<sub>2</sub>'e dönüştürme fonksiyonları olan CODH/ACS'da ters çalıştığı anlaşılmıştır. Burada CODH fonksiyonları su protonundan ve CO<sub>2</sub>'den CO üretmek içindir. Ancak, *M. thermoacetica*, *R. rubrum* ve *C. hydrogenoformans* gelen CODH alt birimlerinin alfa karbon omurgası 0.8-1.0 °A ortalama bir kare kök sapmayla CODH'daki iki anahtar değişikliğini proteinlerin CODH/ACS sınıfında meydana getirmektedir [4].

CO'in metal atomlarına karşı özel afinitesi, metalloproteinleri bir numaralı inhibitör yapar ve tüm CO sensörleri de bu metalleri içerir. Şimdiye kadar açıklanan tüm CO sensörleri Hem'de bulunan spesifik metal merkezine dayanır ve fakat metal sülfür merkezli sensörler henüz bulunamamıştır. Oksijen için FNR [20] ve SoxR [21] gibi, Hidrojen için HoxAJ [22] gibi, NO için NnrR [23] gibi Hem içermeyen sensörler tespit edilmiştir [24].

Hem içeren CO sensörlerinin olması şaşırtıcı değildir çünkü CO neredeyse tüm hem içeren proteinlere bağlanabilmektedir. Bu özelliğin anlamı, diğer belirgin fizyolojik gaz ligandlara sahip oldukları bilinse bile tüm hem içeren proteinlerin biyolojik olarak CO sensör adayı olduğunu söylemektedir [25].

CODH'ların bu çeşitliliği, mikroorganizma kaynaklarından da bahsetmeyi gerektirmektedir. Asetil-CoA sentetaz/CODH'lar, kemootrotrofik olarak büyüyecek ve karbon metabolizmasında kritik rol oynayan anaerobik arkelerde ve bakterilerde bulunmaktadır. Bu grubun en iyi çalışan enzimi homoasetojen *Moorella thermoacetica* (önceki *Clostridium thermoaceticum*)'dan gelmektedir [26].

### **3. Karbonmonoksiti Metabolize Edebilen Mikroorganizmalar**

Çevrede mikroorganizmaların özel bir sınıfının varlığı (karboksidotroflar), atmosferde eser miktarda mevcut olan CO için sorumludur. Ortamda çeşitli bakteriler, büyümeye için enerji ve karbon kaynağı olarak CO'i ve CO<sub>2</sub>'i kullanmayı sağlayan CODH enzimine sahiptir. Bu enzim yüksek ölçüde toksik CO'i CO<sub>2</sub>'e dönüştürmede kullanılabilir [2].

#### **Karboksidotrofik Bakteriler**

Karboksidotrofik bakteriler CO'i CO<sub>2</sub>'e oksitlenme yeteneğine sahiptir. CO ve CO<sub>2</sub> arasındaki ara dönüşüm CODH enzimi ile katalize edilmektedir.



Karboksidotroflar CO'in yüksek düzeylerinde (>100ppm) büyüyebilirler. Mikroorganizmaların (aerob ve anaeroblar) iki ana grubu vardır ve bu nedenle bu mikroorganizmaların CODH enzimleri farklıdır. CODH enzimini taşımayan mikroorganizmalar CO veya CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>'li ortamda büyüyemezler [27].

#### **Aerobik Karboksidotroflar**

Karboksidotrofik bakteriler, temel olarak *Proteobacteria* ve *Firmicutes* cinsinden oluşan küçük ama çeşitli bir aerob grubu oluşturur. Bunlar nispeten düşük afiniteli CO alım sistemleri ekspres ederken, %1'den daha yüksek olduğu durumlarda CO'i tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanırlar [28].

CO<sub>2</sub> Calvin-Benson-Basham yoluyla hücre karbonu olarak özümsenmektedir. Aerobik CO kullanicıları CODH enzimini kullanarak CO'i CO<sub>2</sub>'ye oksitleyebilir. Bu mikroorganizmalar elektron transferini bir elektron taşıma zinciri yoluyla CO oksidasyonunu katalizleyen CODH'dan elde etmektedirler [29]. Çevredeki CO'in detoksifikasiyonunda CODH'lar rol alır çünkü 0.6 uM'a kadar düşük Km değerleri ile izleme gazının alınması için yüksek eğilime sahiptirler [10]. Ancak turnover sayıları anaerobik Ni-CODH'larinkine göre neredeyse 1000 kat daha düşüktür [7]. Bunlar molybdopterin içerdiginden Mo-CODH'lar olarak adlandırılır ve sülfit oksidaz ve ksantin oksidaz gibi birçok özelliklerini de Mo-hidroksilazlarla paylaşırlar. CO oksitleyenlerin çoğunluğu, yüksek sıcaklıklarda (50-120°C), hayatı kalma ve büyümeye kapasitesine sahip termofillerdir. Sicak iklimlerde özellikle volkanik patlamalarda CO seviyeleri yüksektir (0.6-5540 ppm) [30]. Termofilik ve aerobik karboksidotroflar arasında *Bacillus schlegelli*, 50°C'de CO üzerinde büyümeyezen optimum 65 °C'de çok hızlı büyümektedir. Büyümeye Molibden bağımlıdır ve CODH'ı da molibden hidroksilaz ailesine aittir [31].

Molibden hidroksilaz ailesine ait olan *Streptomyces thermoautotrophicus*, metanol ile CODH enziminin inaktivasyonunu sağlamaktadır ve CO üzerinde çoğalabilen bu mikroorganizma organik gübreden izole edilmektedir [32].

RubisCO döğüsü ve C1 asimilasyon yolu enzimleri bulunan *Mycobacterium'un* birkaç türü CODH aktivitesine sahiptir. *Mycobacterium* insanlarda ciddi hastalıklara neden olmaktadır. *Mycobacterium spp.*'nin çoğu karbon ve enerji kaynağı olarak CO ve metanol kullanarak büyüyebilir ve buna karşılık *M. tuberculosis* metanol kullanmaz. *M. tuberculosis*'in büyümesi için yararlı olduğu kanıtlanan solunum gazlarından CO (1-5 ppm) içermektedir. *Mycobacterium spp.* ayrıca CODH aktivitesi yanında NODH (nitrikoksit dehidrojenaz) aktivitesine de sahiptir [33].

CO yükseltgeyiciler aynı zamanda deniz habitatlarında da mevcuttur. CO'in en yüksek konsantrasyonu yüzey sularındadır fakat suda ışığın azalmasıyla konsantrasyon da azalır. Deniz karboksidotrofik mikroorganizmalarından aerobik ve gram negatif olan *Silicibacter pameroyi* enerji kaynağı olarak CO kullanır ve deniz sularında CO'in oksidasyonunu sağlar [27].

Bitki simbiyotik bakterileri (*Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*) ve *Rhizobiae'se*'a ait diğer birçok bakteri türleri de CO oksitleme yeteneğine sahiptir. Gram negatif bir toprak bakterisi olan *Bradyrhizobium*, soya fasulyesi ile simbiyotik olarak yaşar ve baklagillerden simbiyoz sırasında azot bağlar. Bitki kökleri ve nodüllerinden üretilen CO CODH'ın yardımıyla baklagiller tarafından kullanılır. CO bulunması, bununla birlikte CO leghaemoglobin (legHb) olarak bağlanan nitrojenaz aktivitesini inhibe etmektedir. Bunun sonucunda legHb oksijen bağlanması önemekte ve nitrojenaz aktivitesine müdahale etmektedir. Aerobik karboksidotrofların büyük bir grubu olan toprak CO oksidanları da bu kategoriye girmektedir [34].

### **Anaerobik Karboksidotroflar**

Obligat anaeroblar CO<sub>2</sub> fiksasyonunda CO<sub>2</sub>'in CO'e indirgenmesi için CODH kullanırlar. Termofiller (*Carboxydothermus hydrogenoformans*), ACS ile birlikte CODH içerirler. Metajonler(Arke) belli koşullar altında CO üretirken, katı bir anaerobik termofil olan *C. hydrogenoformans* CODH kullanarak CO'i CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>'ye dönüştürür. Bu türler arasındaki CO transferi mutualist bir ilişki örneğidir.

CO üzerinde çoğalabilen ve CO'i metana dönüştüren *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, kanalizasyon atıklarından izole edilir. *Methanosarcina*, *Methanobacterium* ve *Methanobrevibacter* de CO'de büyüyebilir. Asetojenik bakteriler anaerob (*Morella thermoacetica*) CODH'a sahiptirler, asetat sentezi için Wood-Ljungdahl yolundaki enzimi kullanırlar. Oluşturulan asetat böcekler ve alt termitler tarafından kullanılır [35].

### ***Morella thermoacetica***

*Clostridium aceticum*, 1981 yılında izole edilen ilk asetojenik bakteridir. *Morella thermoacetica*, *Thermoanaerobacteriaceae* ailesinden bir *Clostridium*'dur. *M. thermoacetica* çok yönlü bir hetrotroftur [36].

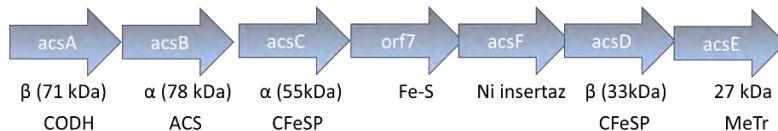
*M. thermoacetica*, karbondioksit eldesiyle ototrofik olarak asetat üretebilen bir asetojenik bakteridir. Asetojenesis asetil CoA yolu veya Wood-Ljungdahl yolu ile oluşturulabilir. *M. thermoacetica* çeşitli substratlar kullanan metabolik olarak en farklı asetojenlerden biridir. *M. thermoacetica*'nın asetil-CoA yolu çeşitli ortamlardaki karbon döngüsünde merkezi önem taşır. Doğada, *M. thermoacetica* durgun göletler altındaki topraklarda bulunur. *M. thermoacetica* periyodik termofilik sıcaklıklardaki topraklarda yaşar ve anaerobtur. Bu termofil bakteri 58 °C'de (140 °F); şekerler, iki karbonlu bileşikler (glioksilat, glikolat ve oksalat), laktat, pirüvat, kısa-zincirli yağ asitleri, metoksilli aromatik bileşiklerle ototrofik ve heterotrofik olarak büyüyebilir [37].

*M. thermoacetica*'nın tam genomu 2008'de dizilenmiştir. Tamamlandığında haritalanan ilk asetojen olmuştur. Genomu, %56'lık GC konsantrasyonuna sahip 2.628.784 baz çiftlik tek bir dairesel kromozomdan oluşmaktadır. Tahminen 2523 proteini kodlayan genin yüzde yetmişinin fonksiyonu bilinmektedir. 16S rRNA dizilerinin analizi asetojenesisin metabolik bir özellik olmasından ziyade filogenetik bir özellik olduğunu kanıtlamada önemlidir. *M. thermoacetica* hücreleri, gram-pozitif ve çubuk şeklindedir. Bunlar 0.4 ila 2.8 mikrometre arasında değişen hareketlilikten yoksun olan ve peritrichous kamçıya sahiptir. *M. thermoacetica* sporları küreseldir ve çoğunlukla alt terminalde sporangium içinde oluşturulmaktadır [38].

### ***M. thermoacetica* ve Karbonmonoksit Dehidrojenaz(CODH)**

Wood–Ljungdahl ototrofik yolundaki enzimin (ACS/CODH=CODH/ACS) fonksiyonları reaksiyon-1'i katalizlemek (CO'dan Asetil-CoA sentezi) ve bir metil grubunu, corrinoid-demir-sülfür proteinden(CoFeS) aktarmaktır [26].

Metil grubunun kaynağı CH<sub>3</sub>-THF'dir (THF=tetrahidrofolat) ve reaksiyon 2'de CoFeSP'nin indirgenmiş Co<sup>1+</sup> durumu üzerine aktarılır. CH<sub>3</sub>-Co<sup>3+</sup>FeSP üzerindeki metil grubu ACS/CODH'ın indirgenmiş formuna aktarılabilir (reaksiyon-3). Asetil-CoA'da tutulan THF'ye bağlı metil grubunun sterokimyasal konfigürasyonu gibi olan N<sub>2</sub> mekanizmalarıyla metil transfer adımları gerçekleşir. Son bağlanan CoA olmasına rağmen, ilk bağlanan metil grubu ya da CO belli değildir[26].



**Sekil 1.** *M. thermoacetica* 'nın ACS operonu

ACS/CODH iki fonksiyonludur ve aynı zamanda CO<sub>2</sub>'in CO'e indirgenmesini geri dönüşümlü olarak katalizler(reaksiyon-6). *M. thermoacetica*'nın ACS operonu Şekil 1'de gösterildiği gibidir. Enzim her bir β alt birimi CO/ CO<sub>2</sub> redoks katalizi için aktif site içeren bir α<sub>2</sub>β<sub>2</sub> tetrameridir. Her alt birim aynı zamanda Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> kümesi içerir. Böylece başka bir küme α<sub>2</sub>β<sub>2</sub> tetromerin 2 β alt birimi arasında köprü kurarken; bu kümeler, C kümesi ve dış redoks maddeleri arasındaki elektronların transferi için kullanılır. α alt birimi asetil-CoA sentezi için aktif A kümesi içerir. A kümesi de bir Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>'e bağlanan [Ni<sub>p</sub>Ni<sub>d</sub>] dimeri oluşturmada fonksiyon gösterir [26].

CODH'in (β-alt birimi)

B-kümesi ve D kümesi, elektron transferini,

C-kümesi CO<sub>2</sub> + 2e<sup>-</sup> + 2H<sup>+</sup> ↔ CO + H<sub>2</sub>O reaksiyonunu katalizler.

ACS'in (α-altbirimi)

Akümesi  $\text{CO} + \text{CFeSP-CH}_3 + \text{CoA} \rightleftharpoons \text{asetil-CoA} + \text{CFeSP}$  reaksiyonunu katalizler.

*M. thermoacetica*'nın iki fonksiyonlu enzimi ACS/CODH'ın protein kristalografisi  $\alpha_2\beta_2$  heterotetramerinin 310 kDa olduğunu göstermiştir.  $\beta$ -domainleri tek fonksiyonlu CODH'a benzer ve B, C ve D kümeleri içerir. Kompleksin her ucunda, ACS aktivitesinden sorumlu A kümesini içeren  $\alpha$  domainları vardır. Gazların hidrofobik kanalları diğer A ve C kümelerini bağlayan aktif bölgeden geçmektedir. *C. thermoaceticum* CODH enziminin  $\alpha$  alt birimi 729 aminoasitten oluşur ve molekül ağırlığı 81730 Da iken,  $\beta$  alt birimi 674 aminoasitten oluşur ve molekül ağırlığı 72.928 Da'dur [39]. Aktif bölgeyi içeren  $\beta$  alt birimi ise ACS etkileşim bölgesi, CODH etkileşim bölgesi ve Ni-Fe-S aktif bölgesini içerir.

### ***Rhodospirillum rubrum***

Fotosentetik bir anaerobik bakteri olan *R. rubrum*, CO'ı tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilir. CO'ı  $\text{CO}_2$ 'e okside ederken CODH enzimini kullanır.

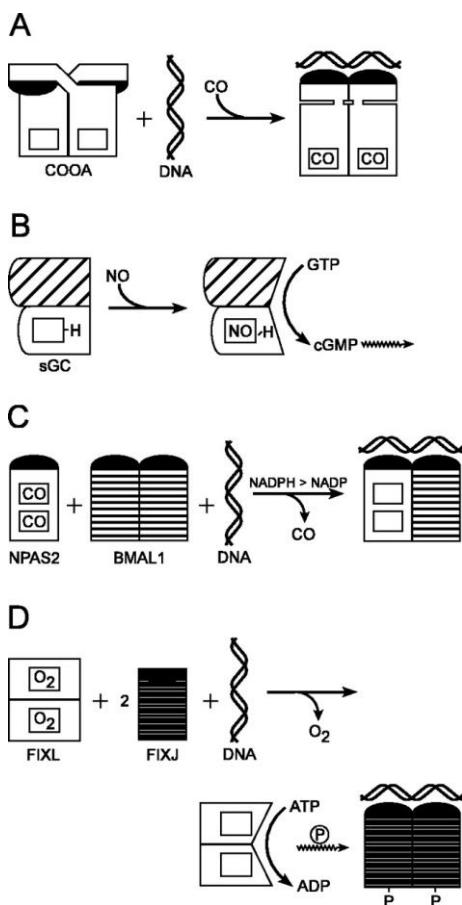
CooA, *Rhodospirillum rubrum*'dan elde edilmiş, hem grubu içeren bir karbonmonoksit duyarlı transkripsiyon faktörüdür. Coo, sıklik adenozin mono fasfat (cAMP) reseptör proteini CRP/fumarat nitrat redüksiyon (FNR) ailesi bir transkripsiyon regülatöridür. CooA, sadece CO sensörü için fizyolojik olarak uygundur ve diğer aday CO sensörleri başka hem-tabanlı sensörlerle benzer genel özelliklere sahiptir [40]. Bir grup hem-bazlı sensör proksimal bir ligand olarak histidin kullanır. Genellikle, bu Fe-His bağı rezonans Raman spektrumunda düşük Fe-His germe frekansı ile kanıtlandığı gibi zayıftır ancak bu zayıf bağın fonksiyonel rolü belirsizdir [41]. Öte yandan, her bir hem tabanlı sensör farklı küçük moleküllü ligandlar için özgürlüğünü etkileyen özel bir hem ortamına sahiptir.

Hem-tabanlı sensörlerde ligand özgürlüğünün üç düzeyi vardır. Oksijenin karbonmonoksitten 20000 kat daha düşük doğal bir afiniteye sahip olması nedeniyle hem bazlı  $\text{O}_2$  sensörleri için ilk önemli olan bağlanma seviyesidir. Hemoglobin ve miyoglobinde distal histidin yan zinciri ve  $\text{O}_2$  ligand arasındaki H-bağı kullanılarak oran 200'den 25'e düşürülür [42]. Ligand spesifikliğinin ikinci seviyesi ligand koordinasyon özelliğini içerir. NO sensörleri için bu seviye yararlıdır çünkü, NO'nun benzersiz, güçlü bir trans etkisi vardır. NO için çözünebilir guanilat siklazın seçiciliği (sGC) çok önemlidir. Üçüncü seçicilik seviyesi, sensör ligand bağlanmasına yanıt olan konformasyonel değişikliği temsil etmektedir (Şekil 2). Belirli bir sensör için, ligand özgürlüğü bu üç düzeyin bir kombinasyonu ile sağlanmaktadır [25].

Karbon ve enerji kaynağı olarak CO kullanan *R. rubrum*'un cooFSCTJ operonu (Şekil 3), ferrodoksin benzeri bir protein için gen (cooF), CODH (cooS) için yapısal gen, ve bir aksesuar proteini (cooCTJ) için gen içermektedir [43]. Mikroorganizmalar CO varlığını algıladığı zaman Coo genlerin ekspresyonu en az 1000 kat indüklenir [44]. Bir hidrojenaz ve proteinleri kodlayan coo gen kümesindeki ilk operon, CODH (cooS) ve bir membran-bağlı elektron transfer FeS proteini için genlerin ikinci operonunu oluşturan enzimin aktif formunu üretmeyi kapsar. Aynı zamanda en az üç diğer gendeki CooS'nın NiFeS aktif bölgesini üretmeyi kapsar. Pek çok çalışma, CooCTJ ürünlerinin olgunlaşma sırasında C-kümesi içine Ni yerleştirilmesine katıldığını göstermiştir [43]. CooC ureE'ye benzeyen bir Ni insertazdır ve ATP hidroliz ile enerji kullanarak Ni yerleştirilmesinde önemli bir yardımcı proteinidir. CooJ da UreE'ye benzer ve en fazla dört Ni iyonu bağlayabilen His açısından zengin bir C-terminali içerir [45]. CooT'nin kesin rolü bilinmemektedir. Fakat Ni sağlamada C-kümesi olarak adlandırılan CO oksidasyonun aktif bölgesine dahil edilen diğer metallere yardımcı olduğu bulunmuştur [46].

CooA tespit edilen çeşitli gaz ( $\text{O}_2$ , CO, NO) sensörü proteinlerinden biridir [48]. CO, cAMP regülatör proteini (CRP) ve fumarat nitrat redüktaz regülatörü (FNR) içeren transkripsiyonel aktivatör ailesinin bir üyesi olan CooA'ya bağlı bir hem tarafından algılanır [49]. Bu proteinler bir N-terminal efektör bağlama alanı içermektedir. CooA'nın inaktif demir formundaki bir histidin kalıntısı (His77) ve amino

terminal prolini (Pro2) hem ligand olarak fonksiyon göstermektedir [50]. Sadece indirgenmiş CooA yapısı bilinmesine rağmen, spektroskopik çalışmalar ligand anahtarlarının karmaşık bir dizisini ortaya çıkarmıştır. CooA hemindeki eksenel ligandlar Pro2 ve His77 iken ferrik ligandlar Cys75 ve Pro2'dir [51, 52].



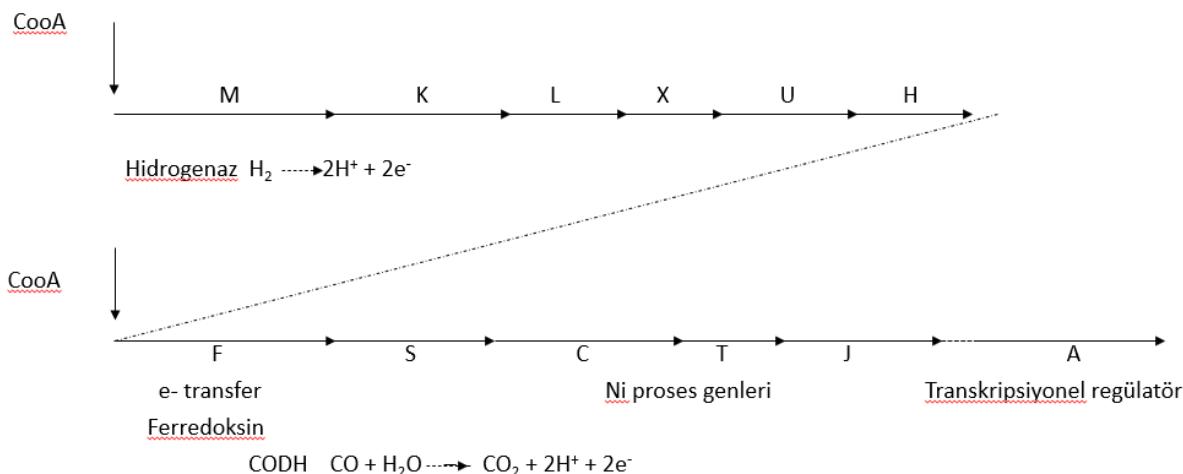
*Şekil 2. CooA, sGC, NPAS, ve FixL nin efektörlerine karşı yanıtlarındaki genel davranışları.*

(A) CO yokluğunda, CooA homodimeri DNA bağlayıcı yüzeylere (siyah gölgeli) sahiptir. Spesifik DNA dizilerini bağlamaya olanak sağlayan DNA-bağlanma yüzeylerinin her bir monomer kısmının CO bağlayıcı üzerindeki yeniden düzenlenmesi önemlidir. DNA'ya bağlı CooA daha sonra gen transkripsiyonuna izin vermek için bir RNA polimerazı ile etkileşime girer.

(B) sGC NO olmadan inaktif bir heterodimer olarak bulunur. Hem bağlı NO, yapısal bir değişikliği tetikleyen endojen bir histidin ligandi(H) değiştirir. SGC'nin aktif konformasyonu önemli bir sinyal molekülü olan cGMP sentezler.

(C) NPAS2 yakın zamanda tanımlanmış fakat tam olarak anlaşılamamıştır. Hem bağlanan küçük moleküllerin varlığında, protein inaktif bir monomer olarak bulunmaktadır. Ama böyle küçük moleküllerin bulunmaması, DNA bağlama ve transkripsiyonu aktive eden BMAL1 gibi bir protein ile aktif bir heterodimer oluşumuna yol açmaktadır.

(D) FixL, hem O<sub>2</sub> bağlandığında inaktif bir homodimer olarak işlev görür. O<sub>2</sub> yokluğunda FixL, otofosforilasyona ve FixJ'ye bu fosfatın daha sonra transferine neden olan konformasyonel değişime uğrar. Fosforile FixJ DNA'ya bağlanır ve anaerobik olarak ifade edilen genlerin transkripsiyonunu aktive eder [25].



**Şekil 3.** *Coo regulon*. CO varlığında, CooA iki operonun transkripsiyonunu aktive etmek için promotora bağlanır. Operonlardan biri zara-bağılı bir hidrojenaz ile bunun yardımcı proteinlerini kodlarken diğer operon CODH ve bunun yardımcı蛋白lerini kodlamaktadır [47].

CO, RNA polimeraz ve coo promotör bölge ile üretenken bir kompleksin oluşumunu desteklemeye ve büyük bir yapısal yeniden düzenlenmeye neden olan prolin liganda bağlanır [49]. Mutagenez ile, CooA ve RNA polimeraz arasındaki etkileşimin siteleri haritalanmıştır [53]. CooA'daki anahtar bir bölge ve ilgili proteinler C-heliks olarak adlandırılan bağlı-DNA'yı ve efektör alanları birbirine bağlayan uzun bir helikstir (sarmalıdır) ve dimer arayüzü olarak fonksiyon görmektedir [48].

### *Carboxydothermus hydrogenoformans*

*C. hydrogenoformans* CO-kullanan termofilik anaerob bir bakteridir. *C. hydrogenoformans* genomu üzerindeki belirlenen (CODH-I-CODH-V) CODH'ları kodlayan beş gen içermektedir [54]. Enzimlerin çeşitli fonksiyonları, genlerine ve yapılan fizyolojik deneylere bağlı olarak ileri sürülmüştür [55]. Buna göre; CODH-I'nın enerji tasarrufu, CODH-II'nın, NADH üretimi, CODH-III'ün, asetil KoA yolunda karbon fiksasyonu, CODH-IV'ün ise oksidatif stres yanıtı fonksiyonuna sahip olduğu bulunmuştur. CODH-V'in fizyolojik işlevi bilinmeden kalmıştır. Fakat bazı hizalama analizlerinde korunan ligand Cys295'in CODH-V'de Glu ile yer değiştirdiği keşfedilmiştir [56]. CODH-I-V arasında, CODH-I ve CODH-II iyi karakterize edilmiş olanlardır. CODH-I ve CODH-II hemen hemen benzer özellikler gösterse de aralarındaki temel fark, CODH-II'nın CODH-I'den CO oksidasyonu için daha uygun olduğu gösteren CO ve CN- ile güçlü inhibisyonudur [57]. CODH-I, CO<sub>2</sub> foto-indirgeme sistemlerinde model katalizördür. Bir elektrot üzerine absorblanan CODH-I, CO<sub>2</sub>'in hızlı ve tersinir dönüşümünü katalizlemektedir [58]. İkinci fark, CODH-I'nın TiO<sub>2</sub> ile etkileşebilen tek enzim olmasıdır. Bununla birlikte, CODH-I pratik ve tekrarlanabilir CO<sub>2</sub> azaltma sisteminin geliştirilmesinde kritik olan yüksek ekspresyon sistemlerinin oluşturulması için gereklidir. Ayrıca CODH-I, CooC homolog kodlayan bir geni (cooC3) içeren CODH / hidrojenaz gen kümесini oluşturmaktadır [59].

### 4. Sonuç ve Öneriler

Karbonmonoksit, kan hücrelerinde bulunan hemoglobin moleküllerinin içerisindeki hem grubu tarafından tutularak insanların oksijen yetersizliğinden zehirlenmelerinin en önemli sebeplerindendir. Bu derleme kapsamında endüstriyel olarak çok çeşitli alanlarda kullanılma potansiyeline sahip olan mikrobiyal karbonmonoksit dehidrojenazlar hakkında bilgiler verilmiştir. CODH enzimi, biyoteknoloji için büyük bir potansiyel sunmaktadır ve birçok endüstriyel uygulamada kullanılabilir. Örneğin biyosensörlerde CO tabanlı problemler, CO algılamaya yardımcı olabilecek şekilde tasarlanabilir [60]. Atmosferdeki CO'ı azaltmak için CO<sub>2</sub>'in sentez gazlarına ve alkanlara dönüşümünde kullanılabilir [2].

Özellikle tüberkülozlu hastalarda akciğer difüzyon kapasitesini ölçmek için kullanılabilir [61]. CO filtreler, sigara filtrelerinde CO<sub>2</sub>'e dönüştürülerek CO'i ayırmak için kullanılabilir [62]. Ancak günümüzde ticari olarak kullanıma henüz ulaşamamıştır.

## Kaynaklar

- [1] Varma, D. R., Mulay, S., Chemtob, S. (2015). Carbon Monoxide: From Public Health Risk to Painless Killer, In: *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents* (Second Edition), Ed(s): Gupta RC, Academic Press, P: 267-286.
- [2] Anand, A., Satyanarayana, T. (2012). Applicability of carboxydrophic bacterial carbonmonoxide dehydrogenase (CODH) in carbon sequestration and bioenergy generation. 381-384.
- [3] Adam, P. S., Borrel, G., Gribaldo, S. (2018). Evolutionary history of carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthase, one of the oldest enzymatic complexes. *Proceedings of the National Academy of Science*. 115(6): E1166–E1173.
- [4] Ragsdale, S. W. (2004). Life with Carbon Monoxide. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 39:165–195.
- [5] Cao, Z. ve Mo, Y. (2007). Computational Characterization of the Elusive C-Cluster of Carbon Monoxide Dehydrogenase. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, Vol. 7, No. 4, 473–484.
- [6] Meyer, O., Jacobitz, S., and Kruger, B. (1986). Biochemistry and physiology of aerobic carbon monoxide-utilizing bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 39:161–179.
- [7] Gnida, M., Ferner, R., Gremer, L., Meyer, O., and Meyer-Klaucke, W. (2003). A novel binuclear [CuSMo] cluster at the active site of carbon monoxide dehydrogenase: characterization by X-ray absorption spectroscopy. *Biochemistry* 42(1):222–230.
- [8] Johnson, J. L., Rajagopalan, K. V., and Meyer, O. (1990). Isolation and characterization of a second molybdopterin dinucleotide: molybdopterin cytosine dinucleotide. *Arch Biochem Biophys* 283:542–545.
- [9] Bray, R. C., George, G. N., Lange, R., and Meyer, O. (1983). Studies by e.p.r. spectroscopy of carbon monoxide oxidases from *Pseudomonas carboxydovorans* and *Pseudomonas carboxydotropha*. *Biochem J*. 211:687–694.
- [10] Meyer, O., Frunzke, K., and M'orsdorf, G. (1993). Biochemistry of the aerobic utilization of carbon monoxide. In *Microbial growth on C1 compounds*, pp. 433–459. J.C. Murrell, and D.P. Kelly, Eds., Intercept, Ltd., Andover, MA.
- [11] Inoue, M., Nakamoto, I., Omae, K., Oguro, T., Ogata, H., Yoshida, T., and Sako, Y. (2019) Structural and Phylogenetic Diversity of Anaerobic Carbon-Monoxide Dehydrogenases. *Front. Microbiol.* 9:3353. doi: 10.3389/fmicb.2018.03353
- [12] Ensign, S. A., Bonam, D., and Ludden, P. W. (1989). Nickel is required for the transfer of electrons from carbon monoxide to the iron-sulfur center(s) of carbon monoxide dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochem* 28(12):4968–4973.
- [13] Bhatnagar, L., Krzycki, J. A., and Zeikus, J. G. (1987). Analysis of hydrogen metabolism in *Methanosaerica barkeri*: regulation of hydrogenase and role of CO-dehydrogenase in H<sub>2</sub> production. *FEMS Microbiol Lett* 41:337–343.
- [14] Menon, S., and Ragsdale, S. W. (1996). Unleashing hydrogenase activity in pyruvate: ferredoxin oxidoreductase and acetyl-CoA synthase/CO dehydrogenase. *Biochemistry* 35(49):15814–15821.
- [15] Santiago, B., and Meyer, O. (1996). Characterization of hydrogenase activities associated with the molybdenum CO dehydrogenase from *Oligotropha carboxidovorans*. *FEMS Microbiol Lett* 136(2):157–162.
- [16] Darnault, C., Volbeda, A., Kim, E. J., Legrand, P., Vernede, X., Lindahl, P. A., and Fontecilla-Camps, J. C. (2003). Ni-Zn-[Fe(4)-S(4)] and Ni-Ni-[Fe(4)-S(4)] clusters in closed and open alpha subunits of acetyl-CoA synthase/carbon monoxide dehydrogenase. *Nat Struct Biol* 10(4):271–279.
- [17] Dobbek, H., Svetlichnyi, V., Gremer, L., Huber, R., and Meyer, O. (2001). Crystal structure of a carbon monoxide dehydrogenase reveals a [Ni-4Fe-5S] cluster. *Science* 293(5533):1281–1285.
- [18] Doukov, T. I., Iverson, T., Seravalli, J., Ragsdale, S. W., and Drennan, C. L. (2002). A Ni-Fe-Cu center in a bifunctional carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthase. *Science* 298(5593):567–572.

- [19] Drennan, C. L., Heo, J., Sintchak, M. D., Schreiter, E., and Ludden, P. W. (2001). Life on carbon monoxide: X-ray structure of *Rhodospirillum rubrum* Ni-Fe-S carbon monoxide dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(21):11973–11978.
- [20] Kiley, P. J., and Beinert, H. (2003). The role of Fe-S proteins in sensing and regulation in bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* 6:181–185.
- [21] Pomposiello, P. J., and Demple, B. (2001). Redox-operated genetic switches: the SoxR and OxyR transcription factors. *Trends Biotechnol.* 19:109–114.
- [22] Bernhard, M., Bahrke, T., Bleijlevens, B., De Lacey, A. L., Fernandez, V. M., Albracht, S. P., and Friedrich, B. (2001). The H<sub>2</sub> sensor of *Ralstonia eutropha*. Biochemical characteristics, spectroscopic properties, and its interaction with a histidine protein kinase. *J. Biol. Chem.* 276:15592–15597.
- [23] Tosques, I. E., Shi, J., and Shapleigh, J. P. (1996). Cloning and characterization of *nnrR*, whose product is required for the expression of proteins involved in nitric oxide metabolism in *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.3. *J. Bacteriol.* 178:4958–4964.
- [24] Zumft, W. G. (2002). Nitric oxide signaling and NO dependent transcriptional control in bacterial denitrification by members of the FNR-CRP regulatör family. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 4:277–286.
- [25] Roberts, G. P., Youn H., and Kerby, R. L. (2004). CO-Sensing Mechanisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68: 453–473.
- [26] Tan, X., Loke, H., Fitch, S., and Lindahl, P. A. (2005). The Tunnel of Acetyl-Coenzyme A Synthase/Carbon Monoxide Dehydrogenase Regulates Delivery of CO to the Active Site. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 5833–5839.
- [27] King, G. M. and Weber C. F. (2007). Distribution, diversity and ecology of aerobic CO oxidising bacteria, *Nature Rev.* 5: 107–118.
- [28] King, G. M., (2003). Molecular and Culture-Based Analyses of Aerobic Carbon Monoxide Oxidizer Diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:12, 7257–7265.
- [29] Meyer, O., and Rhode, M. (1984). Enzymology and bioenergetics of carbon monoxide-oxidizing bacteria. In *Microbial growth on C1 compounds*, pp. 26–33. R.L. Crawford, and R.S. Hanson, Eds., American Society for Microbiology, Washington, DC.
- [30] Sokolova, T. G., Henstra, A. M., Sipma, J., Parshina, S. N., Stams, A. J. (2009). Diversity and eco-physiological features of thermophilic carboxydrophic anaerobes, *FEMS MicrobiolEcol*, 68: 131–141.
- [31] Krüger, B., and Meyer, O. (1984). Thermophilic Bacilli growing with carbon monoxide. *Arch. Microbiol.* 139, 402–408.
- [32] Bell, J. M., Falconer, C., Colby, J., and Williams, E. (1987). CO metabolism by a thermophilic actinomycetes *Streptomyces* strain G26, *J Gen Microbiol*, 133: 3445–3456.
- [33] Park, S. W., Song, T., Kim, S. Y., Oh, J. I., and Eom, C. Y. (2007). CODH in *Mycobacterium* possesses a NODH activity, *Biochem Biophys Res Commun*, 362: 449–453.
- [34] Lorite, M. J., Tachil, J., Sanjuan, J., Meyer, O., and Bedmar, E. J. (2000). CODH activity in *Bradyrhizobium japonicum*, *Appl Env Microbiol*, 66: 1871–1876.
- [35] Matson, E. G., Gora, K. G., and Leadbetter, J. R. (2011). Anaerobic CODH diversity in the homoacetogenic hindgut microbial communities of lower termites and wood roach, *PLOS one*, 6: 1–15.
- [36] Drake, H. L., and Daniel, S. L. (2004). Physiology of the thermophilic acetogen *Moorella thermoacetica*. *Research in Microbiology* 155: 869–883.
- [37] Jiang, B., Henstra, A. M., Paulo, P. L., Balk, M., Van Doesburg, W., and Stams, A. J. M. (2009). A typical one-carbon metabolism of an acetogenic and hydrogenogenic *Moorella thermoacetica* strain. *Archives of Microbiology* 191: 123–131.
- [38] Pierce, E., Xie, G., Barabote, R. D., Saunders, E., Han, C. S., Detter, J. C., Richardson, P., Brettin, T. S., Das, A., Ljungdahl, L. G. and Ragsdale, S. W. (2008). The complete genome sequence of *Moorella thermoacetica* (f. *Clostridium thermoaceticum*). *Environ Microbiol.* Oct;10(10):2550–73.
- [39] Doukov, T. I., Blasiak, L. C., Seravalli, J., Ragsdale, S. W., and Drennan, C. L. (2008). Xenon in and at the End of the Tunnel of Bifunctional Carbon Monoxide Dehydrogenase/Acetyl-CoA Synthase. *Biochemistry*, 47: 3474–3483.

- [40] Tomita, T., Gonzalez, G., Chang, A. L., Ikeda-Saito, M., and Gilles-Gonzalez, M. A. (2002). A comparative resonance Raman analysis of heme-binding PAS domains: heme iron coordination structures of the BjFixL, AxPDEA1, EcDos, and MtDos proteins. *Biochemistry* 41:4819–4826.
- [41] Uchida, T., Ishikawa, H., Ishimori, K., Morishima, I., Nakajima, H., Aono, S., Mizutani, Y., and Kitagawa, T. (2000). Identification of histidine 77 as the axial heme ligand of carbonmonoxy CooA by picosecond time-resolved resonance Raman spectroscopy. *Biochemistry* 39:12747–12752.
- [42] Spiro, T. G., and Jarzecki, A. A. (2001). Heme-based sensors: theoretical modeling of heme-ligand-protein interactions. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 5:715–723.
- [43] Jeon, W. B., Cheng, J., and Ludden, P. W. (2001). Purification and characterization of membrane-associated CooC protein and its functional role in the insertion of nickel into carbon monoxide dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *J Biol Chem* 276(42): 38602–38609.
- [44] Shelver, D., Kerby, R. L., He, Y. P., and Roberts, G. P. (1995). Carbonmonoxide-induced activation of gene expression in *Rhodospirillum rubrum* requires the product of cooA, a member of the cyclic AMP receptor protein family of transcriptional regulators. *J Bacteriol* 177(8): 2157–2163.
- [45] Watt, R. K. and Ludden, P. W. (1998). The identification, purification, and characterization of CooJ. A nickel-binding protein that is co-regulated with the Ni-containing CO dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *J Biol Chem* 273(16):10019–10025.
- [46] Kerby, R. L., Ludden, P. W., and Roberts, G. P. (1997). In vivo nickel insertion into the carbon monoxide dehydrogenase of *Rhodospirillum rubrum*: molecular and physiological characterization of cooCTJ. *J Bacteriol* 179(7):2259–2266.
- [47] Watt, R. K. and Ludden, P. W. (1999). Nickel-binding proteins. *Cell Mol Life Sci* 56(7–8):604–625.
- [48] Dioum, E. M., Rutter, J., Tuckerman, J. R., Gonzalez, G., Gilles-Gonzalez, M. A., and McKnight, S. L. (2002). NPAS2: a gas-responsive transcription factor. *Science* 298(5602):2385–2387.
- [49] Aono, S. (2003). Biochemical and biophysical properties of the COsensing transcriptional activator CooA. *Acc Chem Res* 36:825–831.
- [50] Lanzilotta, W. N., Schuller, D. J., Thorsteinsson, M. V., Kerby, R. L., Roberts, G. P., and Poulos, T. L. (2000). Structure of the CO sensing transcription activator CooA. *Nat Struct Biol* 7:876–880.
- [51] Coyle, C. M., Puranik, M., Youn, H., Nielsen, S. B., Williams, R. D., Kerby, R. L., Roberts, G. P., and Spiro, T. G. (2003). Activation mechanism of the CO sensor CooA. Mutational and resonance Raman spectroscopic studies. *J Biol Chem* 278(37):35384–35393.
- [52] Yamamoto, K., Ishikawa, H., Takahashi, S., Ishimori, K., Morishima, I., Nakajima, H., and Aono, S. (2001). Binding of CO at the Pro2 side is crucial for the activation of CO-sensing transcriptional activator CooA. *1H NMR spectroscopic studies*. *J Biol Chem* 276:11473–11476.
- [53] Leduc, J., Thorsteinsson, M. V., Gaal, T., and Roberts, G. P. (2001). Mapping CooA.RNAPolymerase interactions. Identification of activating regions 2 and 3 in CooA, the co-sensing transcriptional activator. *J Biol Chem* 276(43):39968–39973.
- [54] Wu, M., Ren, Q., Durkin, A. S., Daugherty, S. C., Brinkac, L. M., Dodson, R. J., Madupu, R., Sullivan, S. A., Kolonay, J. F., Haft, D. H., Nelson, W. C., Tallon, L. J., Jones, K. M., Ulrich, L. E., Gonzalez, J. M., Zhulin, I. B., Robband, F. T., and Eisen, J. A. (2005). Life in hot carbon monoxide: the complete genome sequence of *Carboxydothermus hydrogenoformans* Z-2901, *PLoS Genet.* 1 0563–0574.
- [55] Techtmann, S. M., Colman, A. S., Murphy, M. B., Schackwitz, W. S., Goodwin, L. A., and Robb, F. T. (2011). Regulation of multiple carbon monoxide consumption pathways in anaerobic bacteria, *Front. Microbiol.* 2 1–12.
- [56] Lindahl, P. A., and Chang, B. (2001). The evolution of acetyl-CoA synthase, *Origins Life Evol. Biosphere* 31 403–434.
- [57] Wang, V. C., Ragsdale, S. W., and Armstrong, F. A. (2013). Investigations of two bidirectional carbon monoxide dehydrogenases from *Carboxydothermus hydrogenoformans* by protein film electrochemistry. *ChemBioChem*. 14:1845–1851.
- [58] Parkin, A., Seravalli, J., Vincent, K. A., Ragsdale, S. W., and Armstrong, F. A. (2007). Rapid and efficient electrocatalytic  $\text{CO}_2/\text{CO}$  interconversions by *Carboxydothermus hydrogenoformans* CO dehydrogenase I on an electrode. *J. Am. Chem. Soc.* 129: 10328–10329.

- [59] Woolerton, T. W., Sheard, S., Reisner, E., Pierce, E., Ragsdale, S. W., and Armstrong, F. A. (2010). Efficient and clean photoreduction of CO<sub>2</sub> to CO by enzyme-modified TiO<sub>2</sub> nanoparticles using visible light. *J. Am. Chem. Soc.* 132:2132–2133.
- [60] Can, M., Armstrong, F. A., and Ragsdale, S. W. (2014). Structure, Function, and Mechanism of the Nickel Metalloenzymes, CO Dehydrogenase, and Acetyl-CoA Synthase.
- [61] Maiga, M., Choi, S. W., Atudorei, V., Sharp, Z. D., Bishai, W. R., and Timmins, G. S. (2014). In Vitro and In Vivo Studies of a Rapid and Selective Breath Test for Tuberculosis Based upon Mycobacterial CO Dehydrogenase.
- [62] Quiza, L., Lalande, I., Guertin, C., and Constant, P. (2014). Land-use influences the distribution and activity of high affinity CO-oxidizing bacteria associated type I-coxL genotype in soil.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Determination of Some Important Pomological and Biochemical Properties of the Genotypes of Strawberry Tree (*Arbutus unedo L.*) Selected in Bolu Province in Turkey

Ömer BEYHAN<sup>1</sup>, Taki DEMİR<sup>2\*</sup>, Hamdi ZENGİNBAL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sakarya University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Sakarya/Turkey

<sup>2</sup> Sakarya University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Sakarya/Turkey

<sup>3</sup> Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu Technical Sciences Vocational School, Bolu/Turkey

### ABSTRACT

This study was carried out to determine some important pomological and biochemical characteristics of strawberry tree genotypes selected in Bolu province in Turkey. Twenty genotypes, which were found to be most promising according to the data obtained during the two years in the study, were examined. Fruit length was changed between 15.48-21.44 mm, fruit width was 14.07-21.46 mm and fruit weight was between 2.94-7.47 g in the examined genotypes. Soluble solid contents (SSC) was changed 13.95-21.75%, fruit juice pH value 3.40-3.83, titratable acid (TA) 0.48-0.83%; ash content 0.428-0.848%, moisture content 63.78-77.93%, nitrogen content 0.110-0.300% and protein content 0.760-1.850% respectively. The results obtained suggest that the comparison of that results of the studies done in our country and the international data shows that the genetically domesticated genotypes that have grown in the region constitute a promising potential and that selection studies should be continued under controlled conditions.

**Keywords:** Arbutus, Biochemical content, Pomology, Strawberry tree.

## Türkiye'de Bolu İlinde Seçilen Kocayemiş Ağacı (*Arbutus unedo L.*) Genotiplerinin Bazı Önemli Pomolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

### ÖZ

Bu çalışma, Türkiye'de Bolu ilinde seçilen çilek ağacı genotiplerinin bazı önemli pomolojik ve biyokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada iki yıl boyunca elde edilen verilere göre en umut verici olduğu tespit edilen 20 genotip incelendi. İncelenen genotiplerde meyve uzunluğu 15.48-21.44 mm, meyve genişliği 14.07-21.46 mm ve meyve ağırlığı 2.94-7.47 g arasında değişti. Çözünür katı içerikler (SSC)% 13.95-21.75, Meyve Suyu pH değeri 3.40-3.83, titre edilebilir asit (TA) % 0.48-0.83, kül içeriği % 0.428-0.848, nem içeriği % 63.78-77.93, azot içeriği % 0.110-0.300 ve protein içeriği sırasıyla% 0.760-1.850 değişmektedir. Elde edilen sonuçlar, ülkemizde yapılan çalışmaların sonuçları ile uluslararası verilerin karşılaştırılmasının, bölgede yetişen genetik olarak yerel genotiplerin umut verici bir potansiyel oluşturduğunu ve seleksiyon çalışmalarının kontrollü koşullarda sürdürülmesi gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Arbutus, Biyokimyasal içerik, Pomoloji, Kocayemiş ağacı.

\* Corresponding Author's email: tdemir@subu.edu.tr

## 1. Introduction

Turkey is the homeland of many fruit species cultured in the world thanks to its geographical location and climate conditions. Many of the fruit species grown for commercial purposes were created in Anatolia and cultivated here. There are many fruit species that are not native to Turkey and brought to Anatolia from different regions of the world and which are easily adapted to the Anatolian climate [1, 2, 3]. One of the fruits species, which is a natural growth area of Turkey, whose value is understood more with the presentation of its content and whose usage areas for nutritional and medical purposes are starting to increase, is undoubtedly strawberry tree *Arbutus spp.* [4, 5, 6].

There are two common species of *Arbutus unedo L.* and *Arbutus andrachne L.* that grow naturally in our kinship country in the *Ericaceae* family. It is reported that *A. unedo* species is widespread in Western Black Sea Region and Marmara Region where Bolu is located and both species naturally grow up in moist wooded areas in Black Sea, Marmara, Aegean and Mediterranean regions above sea level (700-1000 m). It is also reported that it is a plant that is more resistant to cold than others, like siliceous, acidic and granitic soils [3, 7, 8, 9, 10, 11].

It is also called locally as strawberry tree, mountain chisel or strawberry tree in the regions that grows in our country [12, 13, 14, 15]. In general, they have a plant habitat in the form of shrubs or small trees in forest areas. It is also used in landscaping areas with shrub or shrub forms, impressive flowers and fruit with green leaf structure and it is grown for these purposes [4, 9, 16]. Along with all the fruits, the importance of *Arbutus unedo* has increased by their understanding of their nutritional and medical and pharmacological properties. Under the conditions of our country, *Arbutus unedo* blooms between November and March can mature the fruit all year round. In the regions where it naturally grows, it is possible to find its fruits especially in the local markets during the autumn until the end of November [6, 17, 18, 19].

*Arbutus unedo* fruits are heterogeneous and the shape has a heterogeneous structure in terms of weight, coloration and ripening. Mature fruits are generally round with a diameter of 20-30 mm and red in different tones. Because of its fruity, it has antiseptic, diuretic, laxative properties. Its leaves use in anti-diabetic, hypertension and anti-inflammatory treatment. Both leaves and fruits are anti cancerous thanks to the phenolic substance and antioxidant content of the fruit [20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29].

Due to these characteristics, research has been started in our country related to this fruit species which has been increasing in importance and emphasis has been given to selection studies in order to determine the type of fruit. Agronomic and medical studies are continuing along with selection studies in the Black Sea Region, especially in the Çanakkale, Marmara and Mediterranean Region [3, 6, 16, 17, 18, 19, 30].

This study was carried out in order to determine and compare some important pomological and biochemical characteristics of the genotypes identified in the selection study that was initiated two years ago in the central district of Bolu and its surroundings, which are accepted as transition areas between the Marmara Region and the Western Black Sea Region, and transfer these characteristics to the national and international data.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Materials

This study was conducted between 2013 and 2014 in the central districts and affiliated villages of Bolu province. Twenty genotypes selected as important in the study were obtained in two years. Fruit samples were taken from the genotypes in each tree, shrub and shrub form that were grown entirely naturally in forest areas and evaluated based on the weighed scale. Genotypes were labeled by giving the plate code

of the province of Bolu (14), then the genus name abbreviation (KCY) and then the sequence number (e.g 14KCY-01).

## 2.2. Methods

Genotypes were selected in the first step by considering the fruit characteristics and plant characteristics from the naturally grown populations. In terms of herbal characteristics, criteria such as the form of the tree, being healthy, being at the same age were taken into consideration. Major morphological characteristics affecting fruit quality of 20 selected genotypes are fruit size, fruit weight, fruit shape, soluble solids content (SSC), refractive index, pH of fruit juice, ash ratio, moisture content, titratable acidity, nitrogen and protein ratios were determined. The fruit sizes were made by digital calipers with a sensitivity of 0.01 mm over 10 fruits. The amount of soluble solids content (SSC) was measured by hand refractometer and pH of fruit juice measured by the digital pH meter. Titratable acid is calculated as g / 100 ml in terms of malic acid by titration method. In addition, moisture, ash, nitrogen and protein determinations were determined as percentage values in the samples taken.

## 3. Results and Discussion

Some important pomological characteristics of the genotypes selected in this study were determined to determine some important fruit characteristics of the genotypes selected in the province and its villages in Bolu province. The pomological characteristics of the genotypes examined are presented in Table 1 and the chemical properties are summarized in Table 2. In addition, mean values of these properties and the variation intervals of these values according to genotypes are given in Table 3. As can be seen from the Table 1, the mean fruit size of the selected genotypes was 18.47 mm. This value varied between 15.48 and 21.44 mm according to the genotypes. The fruit width was found to be 17.31 mm on average and the value ranged from 14.07 mm to 21.46 mm. The shape index values obtained from these values were 1.07 on average. This value varied between 0.95 and 1.18 among the genotypes. All genotypes analyzed according to shape index values were evaluated as "Round" shape (Table 1).

The obtained data are in accordance with the results of other studies conducted in our country and the literature. As a matter of fact, similar results were obtained in selection studies carried out in different regions of Turkey. In the genotypes examined in a study carried out in the Çanakkale region, the fruit length varied between 9.52-29.32 mm and the fruit width varied between 11.15-27.47 mm. Whole genotypes were evaluated as fruit-shaped round [12].

In another research conducted in Trabzon, the fruit length varied between 16.17-24.54 mm and the fruit width ranged from 10.74-17.06 mm, and the genotypes were completely rounded in fruit shape [17]. In different investigation conducted in the Marmara Island genotypes, the fruit length varied between 10.87-27.64 mm and the fruit width varied between 12.81 and 25.64 mm [3]. According to the results of an experiment conducted in Giresun, fruit width average was found as 27.96 mm, fruit size average was found as 24.37 mm [18]. It was reported that the fruit length varied between 9.96-25.07 mm and the fruit width varied between 11.47-29.29 mm [19].

The fruit weight is one of the important selection criteria for *Arbutus unedo*. In the genotypes examined, fruit weight ranged from 2.48 g to 7.47 g, mean fruit weight was found to be 4.39 g. The fruit weights of the selected genotypes are also compatible with those obtained in other studies conducted in our country. As a matter of fact, in a study carried out in the Marmara Island, the fruit weights of the genotypes ranged from 1.14 g to 8.19 g [3].

**Table 1.** Some important morphological fruit characteristics of genotypes.

Genotypes	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)	Shape index	Fruit weight (g)	Fruit Shape	Refractive index
14KCY-01	20.61	19.22	1.07	5.36	Round	1.365
14KCY-02	21.44	18.97	1.13	5.46	Round	1.363
14KCY-03	21.04	21.46	0.98	5.97	Round	1.361
14KCY-04	19.98	17.41	1.15	4.60	Round	1.365
14KCY-05	18.92	18.25	1.04	4.07	Round	1.366
14KCY-06	19.59	16.54	1.18	4.57	Round	1.366
14KCY-07	18.48	17.31	1.07	4.40	Round	1.355
14KCY-08	18.45	15.58	1.18	4.21	Round	1.365
14KCY-09	19.31	17.57	1.10	5.02	Round	1.359
14KCY-10	21.06	21.01	1.00	7.47	Round	1.366
14KCY-11	17.83	16.72	1.07	4.54	Round	1.359
14KCY-12	17.55	18.50	0.95	3.97	Round	1.360
14KCY-13	16.82	16.23	1.04	3.30	Round	1.366
14KCY-14	19.06	18.00	1.06	4.83	Round	1.356
14KCY-15	18.47	17.30	1.07	4.39	Round	1.364
14KCY-16	15.48	14.07	1.10	2.48	Round	1.370
14KCY-17	16.23	15.34	1.06	3.47	Round	1.370
14KCY-18	15.61	15.62	1.00	3.12	Round	1.356
14KCY-19	17.06	16.16	1.06	3.71	Round	1.364
14KCY-20	16.50	14.92	1.11	2.94	Round	1.364

Fruit weights in the genotypes examined in Çanakkale region ranged from 0.96 g to 13.63 g [12]. It is reported that fruit weights, which are low in these two studies, belong to *Arbutus andrachne L.* [3]. In a study conducted in Giresun, the average fruit weight was reported to be 10.71 g [18]. In terms of fruit weight, it can be said that the variation between studies is due to genetic properties. However, the climatic characteristics of the regions where the studies carried out on fruit weights. Especially in the Black Sea Region, high humidity ratio increases the fruit weight together with fruit dimensions. It is also reported that the weight of fresh fruits is close to these values in foreign sources [3, 16].

The values of soluble solid content, fracture index, fruit juice pH, titratable acidity quantity, which are important criteria in the examined genotypes, are given in Table 2 and the average values and variation intervals of these values are given in Table 3.

The average value of SSC in genotypes was 18.94%, which varied between 13.95 and 21.75. The mean pH value in fruit juice was 3.65, which ranged from 3.40 to 3.83. The titratable acid value ranged from 0.048 to 0.083 and was averaged to 0.061 (Table 2).

When compared these values with other studies, there are some differences and close values. As a matter of fact, the amount of soluble substance in water varies between 12.0% and 24.4% in the Marmara study [31]. It was changed between 18.5-32.0% in the study conducted in Trabzon [30].

On the other hand, the study conducted in Çanakkale reported that the mean score of SSC was 16.0% [31]. In a study conducted at Ünye district, it was reported that this value changed between 16.62-24.02% [16]. [13] reported that this value was 32.0% in their study. In another study conducted in Trabzon, it has been reported that the value of SSC varies between 16.50-27.00% [19]. We can say that the values are similar in terms of fruit juice, pH and titratable acidity. As a matter of fact, in a study conducted by [3], it was reported that pH grades changed between 3.86-4.80 and vibrational acid value changed between 0.47-1.68 g / ml [3].

**Table 2.** Some important biochemical properties in fruit of genotypes.

Genotypes	SSC (%)	PH	Ash (%)	Moisture (%)	Acidity (%)	Nitrogen (%)	Protein (%)
14KCY-01	20.45	3.70	0.569	69.02	0.050	0.180	1.090
14KCY-02	19.50	3.40	0.615	72.16	0.077	0.190	1.170
14KCY-03	18.20	3.52	0.495	73.90	0.055	0.170	1.090
14KCY-04	21.10	3.56	0.682	69.26	0.063	0.110	0.710
14KCY-05	18.44	3.73	0.608	72.15	0.056	0.200	1.280
14KCY-06	20.85	3.60	0.621	67.30	0.055	0.170	1.420
14KCY-07	13.95	3.75	0.486	65.94	0.059	0.210	1.850
14KCY-08	19.40	3.52	0.428	68.15	0.064	0.200	1.240
14KCY-09	15.25	3.77	0.662	66.83	0.049	0.260	1.630
14KCY-10	21.75	3.73	0.540	69.28	0.048	0.130	0.800
14KCY-11	17.00	3.74	0.848	69.93	0.068	0.210	1.320
14KCY-12	17.70	3.56	0.823	66.27	0.083	0.190	1.190
14KCY-13	19.60	3.75	0.689	67.33	0.066	0.120	0.750
14KCY-14	21.10	3.52	0.652	70.26	0.070	0.170	1.090
14KCY-15	19.75	3.81	0.639	67.18	0.059	0.230	1.410
14KCY-16	19.70	3.62	0.544	72.63	0.064	0.200	1.290
14KCY-17	13.60	3.61	0.705	67.20	0.062	0.170	1.070
14KCY-18	15.25	3.83	0.716	68.76	0.049	0.220	1.360
14KCY-19	15.00	3.63	0.585	77.93	0.059	0.170	1.060
14KCY-20	19.80	3.68	0.486	63.78	0.066	0.150	1.620

As a matter of fact, in a study conducted by [3], it was reported that pH grades changed between 3.86-4.80 and vibrational acid value changed between 0.47-1.68 g / ml [3]. Moreover, in a study conducted in Çanakkale, the pH average was around 5.00 [31]. In a study conducted at Ünye, it was reported that the pH values changed between 3.70 and 4.01 and the acidity was 0.4% [16]. Namely it was reported that pH values ranged from 3.41 to 4.25 and titratable acidity values varied from 1.51 to 3.45 [30]. On the other hand this value varied between 0.74 and 2.04% [19]. Also the amount of acidity [TA] in *Arbutus unedo* was around 4% [31]. It can be argued that the changes in SSC and other chemical contents, as well as genetic differences, may change depending on the regional differences and especially on the maturation ratios of the analyzed fruits [3, 16].

Moisture, ash, nitrogen and protein ratios of the selected genotypes were also determined in fruit samples. The obtained values are summarized in Table 3 and the mean values of these values and the intervals of these values are given in Table 3.

**Table 3.** Mean values and the intervals of important fruit characteristics of genotypes.

Fruit Properties	Average Values	Change Interval
Fruit length (cm)	18.47	15.48-21.44
Fruit width (cm)	17.31	14.07-21.46
Shape index	1.07	0.95-1.18
Fruit weight (g)	4.39	2.94-7.47
Refractive index	1.36	1.35-1.37
Soluble solid content (%)	18.94	13.95-21.75
Fruit juice pH (%)	3.65	3.40-3.83
Ash content (%)	0.63	0.43-0.85
Moisture content (%)	69.51	63.78-77.93
Titratable acidity (%)	0.06	0.05-0.08
Nitrogen content (%)	0.19	0.11-0.30
Protein content (%)	1.22	0.76-1.85

As can be seen from Table 3, the ash contents in the fruits ranged from 0.428% to 0.848% and the average value was calculated as 0.63%. As it known, the ash content is an important fruit feature in terms of revealing the mineral content of the fruits. This property is also consistent with the results of other studies. As a matter of fact [15] reported that the rate of ash in the samples was 2.82% and the obtained proportion can be considered low.

Nitrogen content in the examined genotypes was 0.190% on average, and this value varied from 0.110% to 0.300% according to the genotypes. Protein ratios in the genotypes parallel to the nitrogen ratio have similar results. As a matter of fact, the average protein ratio was 1.220% and this value varied between 0.760% and 1.850% according to the genotypes. These values are in accordance with other study results. In a study conducted, it was reported that the crude protein ratio in the genotypes examined was 3.36% [13].

#### 4. Conclusions

As a result, *Arbutus unedo* has become a type of fruit which has recently been emphasized both abroad and in our country, with its full content and health implications. It has been shown that the genotypes which are examined in this study conducted in and around Bolu province, which is a transit point between the Black Sea Region and the Marmara Region, it was determined that the genotypes examined are promising in terms of fruit characteristics.

At the same time, this study is also important in terms of revealing the potential of the area. If these values are thought to be derived from natural plants that grow in completely natural conditions and have no cultural practice, it is possible to say that these genotypes will have superior values when cultivated under controlled conditions. In this respect, it is necessary to determine the appropriate varieties and to provide the cultivars as standard varieties by considering the continuity of these studies as beginning and the usage purposes

#### References

- [1] Güleryüz, M., Pirlak, L., and Aslantaş, R. (1995). Bazı yabani meyve türlerinin besin değerlerinin belirlenmesi üzerinde bir araştırma, in *Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 13-16 Ekim 1995*.
- [2] Beyhan, Ö., Elmastaş, M., and Gedikli, F. (2010). Total Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Leaf, Dry Fruit and Fresh Fruit of Feijoa (*Acca sellowiana* Myrtaceae), *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 4, no. 11, pp. 1065-1072.
- [3] İslam, A., and Pehlivan, N. F. (2016). Marmara Adası'nda Yetişen Kocayemişlerin (*Arbutus unedo* L.) Pomolojik Özellikleri, *Akademik Ziraat Dergisi*, vol. 5, no. 1, pp. 13-20.
- [4] Anşın, R., and Özkan, C. (1993). Tohumlu Bitkiler (Fenerogam), 512 ed., Trabzon: K.T.U. Orman Fak. Yayınları.
- [5] Demirsoy, L., and Çelikel, G. (2006). Doğada Bir Hazine: Kocayemiş, *Hasad Dergisi, Bitkisel Üretim*, no. 257.
- [6] Şenyurt, M., Bak, T., and Karadeniz, T. (2011). Kocayemişin (*Arbutus unedo* L.) Çelikle Çoğaltıması, in *Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Şanlıurfa*,
- [7] Seidemann, J. (1995). Knowledge of little-known exotic fruits. 5. Strawberry tree *Arbutus unedo* L., *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, vol. 91, no. 4, pp. 110-113.
- [8] Soro, A., and Paxton, R. J. (1999). Strawberry Tree: a significant source of nectar around the Mediterranean basin, *Bee World*, vol. 80, no. 3, pp. 140-144.
- [9] Yaltırık, T., and Erdinç, S. (2002). Trees, Istanbul, The Foundation of Challenge with Erosion, Forestation and Protection of Natural Resources of Turkey: 32, İstanbul.

- [10] Onursal, C. E., and Gözlekçi, Ş. (2007). Sandal ağacı (*Arbutus andrachne* L.) tohumlarına yapılan bazı ön uygulamaların tohum çimlenme oranı ve süresi üzerine etkileri, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, vol. 20, no. 2, pp. 211-218.
- [11] Demirsoy, L., Demirsoy, H., Çelikel, G., Macit, L. and Ersoy, B. (2010). Seed Treatment with GA3 or Stratification Enhances Emergence of some Strawberry Tree Genotypes. *Hort. Sci.* Vol.37. No.1: 34-37.
- [12] Şeker, M., Yücel, Z., and Nurdan, E. (2004). Çanakkale Yöresi Doğal Florasında Bulunan Kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) Populasyonunun Morfolojik ve Pomolojik Özelliklerinin incelenmesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, vol. 10, no. 4, pp. 422-427.
- [13] Özcan, M. M., and Haciseferogulları, H. (2007). The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents, *Journal of Food Engineering*, vol. 78, pp. 1022-1028.
- [14] Çelikel, G., Demirsoy, L., and Demirsoy, H. (2008). The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey, *Scientia Horticulturae*, vol. 118, pp. 115-119.
- [15] Şeker, M., Akçal, A., Sakaldış, M., and Gündoğdu, M. (2010). Farklı Çelik Alma Dönemleri ile Oksin Dozlarının Kocayemişin (*Arbutus unedo* L.) Köklenme Oranı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi," *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol. 24, no. 1, pp. 99-108.
- [16] Yarılıgaç, T., and İslam, A. (2007). Ünye Yöresi Kocayemişlerinin (*Arbutus unedo*.L.) Bazı Pomolojik Özellikleri," in *Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, Erzurum.
- [17] Karadeniz, T., Kurt, H., and Kalkışım, Ö. (1996). Yomra (Trabzon) Çevresinde Yetişen Kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) Tiplerinin Meyve Özellikleri Üzerinde Çalışmalar, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dergisi*, vol. 6, no. 4, pp. 65-70.
- [18] Karadeniz, T., and Şışman, T. (2003). Giresun'da yetiştirilen bir kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) tipinin biyolojik özellikleri, in *Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Ordu.
- [19] Karadeniz, T., Şenyurt, M., and Kalkışım, Ö. (2011). Trabzon (Kaşüstü) Yöresinde Yetişen Kocayemişlerin (*Arbutus unedo* L.) Pomolojik Özellikleri, in *Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, Şanlıurfa.
- [20] Baytop, T. (1984). Türkiye' de Bitkiler ile Tedavi (Therapy by Plants in Turkey), İstanbul: İ.U. Yayınları: 520, 1984.
- [21] Ayaz, F. A., Küçükislamoğlu, M., and Reunanen, M. (2000). Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits, *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 13, no. 2, pp. 171-177.
- [22] Pabuçoğlu, A., Kılçak, B., Baş, M., and Mert, T. (2003). Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves," *Fitoterapia*, no. 74, pp. 597-599,
- [23] Mariotto, S., Esposito, E., Paola, R. D., Ciampa, A., Mazzon E., and Prati, A. C. (2008). Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice, *Pharmacological Research*, vol. 57, pp. 110-124.
- [24] Özgen, M., Torun, A. A., Ercișli, S., and Serce, S. (2009). Changes in chemical composition, antioxidant activities and total phenolic content of *Arbutus andrachne* fruit at different maturation stages, *Italian J. Food Sci.*, no. 21, pp. 65-72.
- [25] Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., and Ferreira, I. (2010). Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties, *Food Chemistry*, no. 120, pp. 247-254.
- [26] Mendes, L., Freitas, V., Baptista, P., and Carvalho, M. (2011). Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit, *Food and Chemical Toxicology*, vol. 49, pp. 2285-2291.
- [27] Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento A., and Pereira, J. A. (2011). Influence

- of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity, *Food Research International*, no. 44, pp. 1401-1407.
- [28] İşbilir, Ş. S., Oral, H. H., Yağar, H., and Ekinci, N. (2012). Determination of Antioksidan Aktivites of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Flowers and Fruits at Different Ripening Stages, *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, vol. 11, no. 3, pp. 223-237.
- [29] Malheiro, R., Sa, O., Pereira, E., Aguiar, C., Baptista, P., and Pereira, J. A. (2012). *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties, *Industrial Crops and Products*, no. 37, pp. 473-478.
- [30] Karadeniz, T., Kalkışım, Ö., and Şişman, T. (2003). Trabzon Çevresinde Yetişen Kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) Tiplerinin Meyve Özellikleri ve Çelikle Çoğaltılması, in *Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Ordu.
- [31] Şeker, M., and Toplu, C. (2007). Çanakkale yöresi doğal florasında bulunan kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) meyvelerinin ayrıntılı kimyasal yapılarının belirlenmesi, 5. *Gıda Mühendiliği Kongresi*, Ankara.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).