

ISSN 1309-5889



Zeytin Bilimi

ZEYTİNCİLİK ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ DERGİSİ JOURNAL OF OLIVE RESEARCH INSTITUTE

Cilt
Volume **1**

Sayı
Number **2**

Yıl
Year **2010**



**Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Adına**

Sahibi

Dr. Seyfi ÖZİŞİK
(Enstitü Müdürü)

Yazı İşleri Müdürü

Mehmet ULAŞ

Yayın Kurulu

Mehmet ULAŞ
Nuray KÖRÜKMEZ AYDOĞAN
Öznur ÇETİN
Didar SEVİM
Özgür DURSUN
Ferişte ÖZTÜRK GÜNGÖR
Mehmet HAKAN
İlhan ÖZKARAKAŞ

*Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Yayıdır.
Türkçe Olarak Altı Ayda Bir Yayınlanır.*

Yazışma Adresi

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğü
Üniversite cad. no:43 35100 Bornova /İZMİR

Telefon

0 232 462 70 73
0 232 462 70 74

Web Adresi

www.zae.gov.tr

Elektronik Posta

posta@zae.gov.tr, zeytinbilimi@gmail.com

Baskı

Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri
0 232 343 64 54
metabasim@gmail.com

*Derginin tüm yayın hakları Zeytincilik Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğüne aittir.
Kaynak gösterilmesi koşuluyla alıntı yapılabilir.*

Zeytin Bilimi Dergisi Yayın İlkeleri

Zeytin Bilimi dergisi Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından yılda 2 defa çıkarılacak olan tarımsal içerikli makalelerin yayınlanacağı bir dergidir. Bu dergide Zeytin Tarımı ve Zeytin Ürünleri Teknolojilerini içeren *tarımsal konularda* araştırma ve derleme makaleler yayınlanacaktır.

1. Yayınlanacak olan makaleler başka hiçbir yerde yayınlanmamış olacaktır.
2. Yayınlanan her makalenin sorumluluğu yazar(lar)ına aittir.
3. Gönderilen makale yayın kurulunca incelenerek, değerlendirilmesi için hakemlere gönderilecektir. Hakemlerce yayınlanmaya değer bulunan makaleler yayınlanacaktır.
4. Gönderilen makaleler yayınlansın veya yayınlanmasın geri verilmeyecektir.
5. Hazırlanan makalenin bir kopyası yazışma adresine gönderilecektir.
6. Yayın Kurulu gerekli gördüğü takdirde makalede kısaltma ve düzeltme yapabilecektir.
7. Yayınlanan yazılardan dolayı yazar(lar)a telif hakkı ödenmeyecektir.
8. Yayınlanan makalenin yazar(lar)ına 2 adet dergi gönderilecektir.

Bu Sayının Yayın Danışmanları

(İsimler Unvanlarına göre Alfabetik sıra ile yazılmıştır.)

Prof. Dr. Ahmet ONAY
Prof. Dr. Ayşe Nilgün AKIN
Prof. Dr. Aytaç GÜMÜŞKESEN
Prof. Dr. Fahrettin GÖĞÜŞ
Prof. Dr. Ömer GEZEREL
Prof. Dr. Sadettin BALOĞLU
Doç. Dr. Erdinç İKİZOĞLU
Doç. Dr. Eyüp DEBİK
Doç. Dr. Murat TAŞAN
Doç. Dr. Mücahit Taha ÖZKAYA
Doç. Dr. Serkan SELLİ
Doç. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Yrd. Doç. Dr. Cenap YILMAZ
Yrd. Doç. Dr. Coşkun DURGAÇ
Yrd. Doç. Dr. Dilşat BOZDOĞAN KONUŞKAN
Yrd. Doç. Dr. Ebru SAKAR
Yrd. Doç. Dr. Engin TILKAT
Yrd. Doç. Dr. Zafer CAN

İÇİNDEKİLER (CONTENTS)

ARAŞTIRMALAR (ORIGINAL PAPERS)

Farklı Anaçlar Üzerine Aşıl原因an Domat Zeytin Çeşidinin Fidan Özellikleri ve Besin Alımı Düzeylerinin Belirlenmesi

Determination of Plants Characteristics and Nutrient Uptake of Domat Olive Cultivars Grafted on Different Rootstock

Nilüfer KALECİ, Zeliha ORHAN 43

Gemlik Zeytin Çeşidi (*Olea europaea* L.) Çeliklerinde *Trichoderma harzianum* Uygulamalarının Kök Gelişimi, Fidan Kalitesi ve Karbonhidrat Birikimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Determination of the Effects of *Trichoderma harzianum* Applications on the Root Growth, Nursery Plant Quality and Carbohydrates Reserves of Gemlik Olive (*Olea europaea* L.) Cuttings

Selcan TAŞÇI, Mehmet Ali GÜNDOĞDU, Engin GÜR, Murat ŞEKER 49

Bazı Sofralık Zeytin Çeşitlerimizin Toplam Fenolik Madde Miktarları ve İşleme Tekniklerinin Bu Bileşikler Üzerine Etkileri

The Determination of Total Phenol Quantities of Some Turkish Table Olive Varieties and the Effects of Processing Methods on These Compounds

Şahnur IRMAK, Ferište ÖZTÜRK GÜNGÖR, Erkan SUSAMCI 57

Türkiye Zeytinciliğinde Karasu Sorunu ve Bazı Çözüm Önerileri

The Problem of Olive Mill Waste Water in the Turkish Olive Industry

Renan TUNALIOĞLU, Tolga BEKTAŞ 65

Pirinanın Enzim Tutuklanmasında Destek Maddesi Olarak Kullanılabilme Kapasitesi

Capacity of Using Olive Pomace as Support Material for Enzyme Immobilization

Yasin YÜCEL 73

Konvansiyonel ve Organik Olarak Yetiştirilen Ayvalık Zeytin Çeşidinin Bazı Meyve Özellikleri, Yağ Asitleri ve Tokoferol Seviyelerinin Belirlenmesi

Determination of Some Fruit Characteristics, Fatty Acid and Tocopherol Content of Ayvalık Olive Cultivar Grown under Conventional and Organic Farming Conditions

N. KALECİ 79

DERLEME (REVIEW)

Zeytin Mikroçoğaltımı ve Konzervasyonunda Güncel Biyoteknolojik Gelişmeler

Recent Biotechnological Advances in Olive Micropropagation and Conservation

Ergun KAYA, Hülya AKDEMİR, Yelda ÖZDEN 79

Farklı Anaçlar Üzerine Aşıl原因an Domat Zeytin Çeşidinin Fidan Özellikleri ve Besin Alımı Düzeylerinin Belirlenmesi

Determination of Plants Characteristics and Nutrient Uptake of Domat Olive Cultivars Grafted on Different Rootstock

Nilüfer KALECİ, Zeliha ORHAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Geliş tarihi: 25.10.2010

Kabul tarihi: 22.12.2010

Özet

Bu araştırma Domat zeytin çeşidinin kolay köklenen çeşitler üzerine aşıl原因abilme imkânlarının araştırılması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada çelikten köklenmiş 1 ve 3 yaşlı Gemlik çeşidi ve 1 yaşlı Ayvalık çeşidi ile çöğür anaç olarak kullanılmış ve üzerine Domat çeşidi aşıl原因anmıştır. Fidanlarda; aşı tutma oranı (%), anaç çap gelişimi (mm), kalem çap gelişimi (mm), fidan boyu uzunluğu (mm), sürgün uzunluğu (mm) ölçümleri ile aşıl原因anmış bir yaşlı fidanlardan alınan yaprak örneklerinde makro ve mikro besin elementleri analizleri yapılmıştır. Araştırma sonunda Domat çeşidi için kolay köklenen Gemlik çeşidinin anaç olarak kullanılabileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, çelik, anaç, aşıl原因ama

Abstract

This research was conducted to determine the possibilities of propagation of Domat olive cultivar by grafting on easily own-rooted olive cultivars. In this study, cuttings rooted from semi hardwood of 1 year and 3 years old Gemlik and 1 year old Ayvalık olive cultivars were used as rootstocks and then Domat cultivar were grafted on those plants. The success of graft (%), rootstock and scion diameter (%), plant length (mm), shoot length (mm) on grafted olive plants were measured. Otherwise, macro and micro nutrient elements contents were analyzed on leaves of a one year old grafted plant. At end of the study, it is determined that Domat olive cultivar can be propagated by grafting on easily own-rooted Gemlik olive cultivar.

Keywords: Olive, cutting, rootstock, grafting,

Giriş

Türkiye’de önceleri delicelerin yerinde aşıl原因ması ile yapılan zeytin yetiştiriciliği, yerini günümüzde hızlı fidan üretimini sağlayan yeni metotlara bırakmıştır. Diğer zeytinci ülkelerde olduğu gibi ülkemizde en fazla çelik ve aşıl原因ama yöntemi ile fidan üretimi yapılmaktadır. Özellikle yapraklı çe-

likle yapılan çoğaltımın fidan üretiminde kolay ve ekonomik bir yöntem olması, zeytinde fidan yetiştiriciliğini çok kolaylaştırmıştır (Kaynaş, 1995). Özellikle Gemlik, Manzanilla ve Ayvalık gibi önemli zeytin çeşitlerinin köklenme oranının oldukça yüksek olması bu çeşitlerin kolayca ve bol miktarda üretilmesini sağlarken, bazı çeşitlerin de köklenme sorunu yaşadığı saptanmıştır (Dikmen

ve Uluskan, 1982; Shobolul ve Mendilcioğlu, 1985; Uluskan ve ark. 1986). Yapılan araştırmalarda adventif köklenmenin fizyolojik mekanizmasını olumsuz etkileyen çok sayıda iç ve dış faktörün olabileceği saptanmıştır (Raviv ve ark. 1986). Özkaya ve Çelik (1999), yarı odun çelikleri zor köklenen (Domat) ve kolay köklenen (Gemlik) zeytin çeşitlerinde köklenme farklılığının nedenleri ve mekanizmasını araştıran çalışmalarında, toplam şeker ve nişasta düzeylerini belirlemişlerdir. Toplam şeker miktarının Domat çeşidinde Gemlik çeşidine göre daha yüksek bulunduğu saptanmıştır. Çeliklerin köklenmesindeki bu sorun, birçok ekonomik öneme sahip çeşit gibi Türkiye'nin önemli yeşil sofralık zeytinlerinden Domat çeşidinin de çoğaltılması sınırlandırmaktadır. Domat zeytininin çeliklerinin köklenme oranının düşük olması nedeni ile yeterli sayıda fidan üretimi yapılamadığı için çeşidinin üretimi çöğür üzerine aşılanarak yapılabilmektedir. Ancak aşı ile fidan üretim sürecinin uzun olması ve daha fazla işgücü gerektirmesi maliyetinin de artmasına neden olmakta bu da fidan fiyatına yansımaktadır. Çeşidinin bu sorunu çözmek için kolay köklenen Gemlik zeytin çeşidi çelikleri üzerine Domat çeşidinin göz aşısı ile aşılandıktan sonra çelikler farklı dikim yöntemleri dikildikten sonra köklenme ve aşı tutma oranları incelenmiştir (Tekintaş ve ark., 2000). Domat zeytin çeşidinin kontrollü şartlar altında köklü ve köksüz klon anaçlar üzerine aşılanarak çoğaltılması amacıyla yapılan bir çalışmada, köklü çeliklerde aşı tutma oranlarını sırasıyla şahit (çöğür) %59,17, Manzanilla %33,13, Gemlik %30,83 ve tohum anacı olarak seçilen delicelerden D-36 %30,42, D-14 %25,00, D-9 %24,17, D-43 %21,67 olarak saptanmıştır (Özen, 2002). Köklü çelikle yapılan aşılar; aşı sürgünü gelişmesi, Ekim ayında aşı yapılanlarda 117,95 cm, çoban aşı metodu ile aşılananlarda 112,15 cm ve anaç olarak çöğür 113,37 cm, Manzanilla 111,33 cm, Gemlik 108,98 cm, D-36 108,80 cm, D-43 106,68 cm D-14 105,09 cm, D-9 101,70 cm olarak tespit edilmiştir. Diğer yandan Kaplankıran ve ark. (1982), bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda farklı reaksiyon sergilemelerinde üzerine aşıları oldukları anaçların bitki besin maddelerinin alımı, taşınması ve kullanımındaki farklılıkların da etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Püskülcü (1989), yeterli bir şekilde beslenen zeytinlerde yaprağın besin maddesi kap-

samının % 1,4–2,0 N; % 0,08–0,2 P; % 0,7–1,4 K; % 1,4–2,5 Ca, % 0,25–0,46 Mg olması gerektiğini ileri sürmüştür. Bu araştırma Domat zeytin çeşidinin kolay köklenen çeşitler üzerine aşılanabilme imkânları ile gelişme durumlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Yöntem

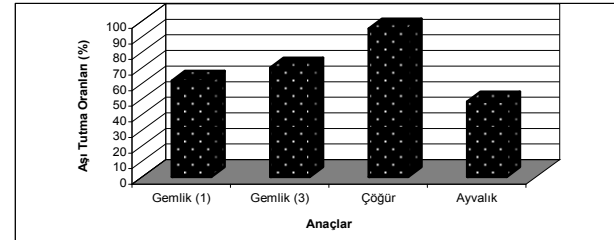
Bu çalışma 2006–2007 yıllarında yürütülmüş olup denemede materyal olarak Domat zeytin çeşidi kullanılmıştır. Bu çeşide ait bitkiler üç farklı anaç üzerine aşılanmış ve anaç olarak çöğür (2 yaşlı), Ayvalık (1 yaşlı) ve Gemlik (1 ve 3 yaşlı) çeşitlerin fidanları kullanılmıştır. Denemede kullanılan Gemlik ve Ayvalık çeşidi klon anaçları, 2006 yılında sisleme altında yeşil çelikle çoğaltılmış, çöğür anaçları ise yabani zeytin (delice) tohumundan yetiştirilmiştir. Yeterli kök gelişimini tamamlamış, sisleme altında çoğaltılan anaçlar ile çöğür fidanları, ticari olarak satışa sunulmak üzere hazırlanmış olan ve içerisinde 2:1:1:1/2 (toprak: torf: kum: ahır gübresi) harç karışımı bulunan 4–5 kg hacimli plastik torbalar içine alınmıştır (Kaynaş, 1994). Hazırlanan anaçlar üzerine çeşitler ilkbaharda (Nisan ayı) kabuk altı kalem aşısı yöntemiyle aşılanmıştır. Denemede bitkilerde aşı tutma, anaç çap gelişimi (mm), kalem çap gelişimi (mm), Fidan boyu (aşı noktasından itibaren) ve sürgün boyu (fidanın dört yanından seçilen sürgünler üzerinde) uzaması (mm) ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca aşılanmış 1 yaşlı fidanların yaprak örneklerinde makro ve mikro besin elementleri analizleri yapılmıştır. Toplam N Kjeldahl yöntemi ile % olarak (Bremmer, 1965) saptanmıştır. K, Ca, Mg elementleri %, Zn, Cu, Mn, Fe elementleri ise ppm olarak Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde (AAS) belirlenmiştir. Bor elementi kuru yakma yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda Bor Azomethine- H yöntemiyle ppm olarak belirlenmiştir (Wolf, 1971). Fosfor, % olarak Vanado molibdo fosforik asit renk metodu ile saptanmıştır (Kacar, 1971). Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuş ve her tekerrürde 20 adet bitki kullanılmıştır. Araştırmada elde edilen veriler Anova testi ile LSD %5 seviyesinde "minitab" istatistik paket programında değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Domat zeytin çeşidinin farklı anaçlar üzerindeki aşı tutma oranları anaçlara göre değişiklik göstermiştir (Şekil 1). Aşı tutma yüzdesi en yüksek çöğür anacında %95 oranında görülmüştür. Bunu sırasıyla Gemlik (3 yaşlı) %70, Gemlik (1 yaşlı) %61,6 ve Ayvalık %48,3 olarak takip etmiştir. Benzer eğilimler Özen (2002)'in yaptığı çalışmada da izlenmiş, burada da en yüksek aşı tutma oranı çöğür üzerine aşıli olanlarda (%59,17) görülmüş, bunu %30,83 ile Gemlik üzerine aşıli olanlar izlemiştir. Burada da görüldüğü üzere yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının her iki anaç için de Özen (2002)'in sonuçlarına göre çok yüksek olduğu izlenmiştir. Bunun nedeni alınan çeliklerin yapısına bağlı olabileceği gibi, aşından sonraki bakım koşulları ile ilgili de olabilir.

Aşılandıktan sonra Domat fidanlarındaki anaç çap gelişimi aylık olarak izlenmiş ve anaçlar arasında gelişim farklılığı saptanmaya çalışılmıştır (Çizelge 1). Buna göre aşımın yapıldığı Nisan ayına göre bitkilerdeki çap gelişimi, Ayvalık anacında %8,71, çöğür anacında %7,58, 3 yaşlı Gemlik anacında

%6,16 ve 1 yaşlı Gemlik anacında %5,84 değerinde artış göstermiştir. Anaçların çap gelişimleri arasında başlangıçtan itibaren azda olsa artış olmakla birlikte, farklılığın anlaşılması için daha uzun bir süre izlenmesi gerektiğini söylemek mümkün olabilir.



Şekil 1. Farklı anaçlar üzerine aşılanan "Domat" zeytin çeşidinin aşı tutma oranları (%)

Domat çeşidinin 4 farklı anaç üzerine aşılanan bitkilerindeki kalem çap gelişimleri arasında ise daha net bir farklılık gözlenmiş, başlangıca göre çöğür anacında %23,96, 3 yaşlı Gemlik anacında %16,49, Ayvalık anacında %8,54 ve 1 yaşlı Gemlik anacında %6,99 oranında artış olduğu saptanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 1. Farklı anaçlar üzerine aşılanan Domat zeytin çeşidinin aylara göre anaç çap gelişimindeki değişimler (mm)

Aylar	Anaçlar				Aylar Ort.
	1 yaşlı Gemlik	3 yaşlı Gemlik	Çöğür	Ayvalık	
Nisan	10,43	11,51	11,07	11,71	11,19
Mayıs	10,8	11,52	11,16	11,75	11,23
Haziran	10,58	11,67	11,34	12,24	11,46
Temmuz	10,75	11,47	11,54	12,39	11,53
Ağustos	10,90	11,62	11,76	12,54	11,70
Eylül	11,00	12,10	11,85	12,64	11,90
Ekim	11,04	12,22	11,91	12,73	11,98
Anaç Ort.	10,74 C	11,73 B	11,52 B	12,29 A	Ö.D
Önem Der.			*		Ö.D
LSD (0.05)			0,38		-

Anaç*Ay: Ö.D. *: %5 düzeyinde önemli, Ö.D: Önemli Değil

Çizelge 2. Farklı anaçlar üzerine aşılanan Domat zeytin çeşidinin aylara göre kalem çap gelişimindeki değişimler (mm)

Aylar	Anaçlar				Aylar Ort.
	1 yaşlı Gemlik	3 yaşlı Gemlik	Çöğür	Ayvalık	
Nisan	6,58	6,79	5,8	6,67	6,67
Mayıs	6,63	7,62	6,19	6,71	6,58
Haziran	6,76	7,01	6,43	6,8	6,76
Temmuz	6,96	7,25	6,67	6,97	6,97
Ağustos	7,04	7,45	6,91	7,11	7,13
Eylül	7,11	7,56	7,03	7,2	7,23
Ekim	7,04	7,91	7,19	7,24	7,35
Anaç Ort.	6,88	7,38	6,61	6,96	Ö.D.
Önem Der.			Ö.D		Ö.D.
LSD (0.05)			-		-

Anaç*Ay: Ö.D. *: %5 düzeyinde önemli, Ö.D: Önemli Değil

Çizelge 3. Farklı anaçlar üzerine aşıl原因 Domat zeytin çeşidinin aylara göre sürgün uzunluğu gelişimindeki değişimler (cm)

Aylar	Anaçlar				Aylar Ort.
	1 yaşlı Gem.	3 yaşlı Gem.	Çöğür	Ayvalık	
Mayıs	-	1,17	2,94	1,39	1,38 D
Haziran	1,13	3,95	8,39	5,58	4,77 D
Temmuz	3,31	7,40	17,01	11,43	9,79 C
Ağustos	7,75	13,27	25,56	19,71	16,58 B
Eylül	15,39	16,86	31,15	24,32	21,93 A
Ekim	19,03	18,99	33,48	25,83	24,33 A
Anaç Ort.	7,77 C	10,28 C	19,75 A	17,71 B	*
Önem Der.			*		
LSD (0,05)			2,85		3,49

Anaç*Ay: Ö.D. *: %5 düzeyinde önemli, Ö.D: Önemli Değil

Çizelge 4. Farklı anaçlar üzerine aşıl原因 Domat zeytin çeşidinin aylara göre fidan boyu gelişimindeki değişimler (cm)

Aylar	Anaçlar				Aylar Ort.
	1 yaşlı Gemlik	3 yaşlı Gemlik	Çöğür	Ayvalık	
Nisan	7,40 k	6,67 k	7,78 k	6,97 k	7,20 F
Mayıs	9,40 k	11,13 jk	9,78 jk	10,59 jk	10,22 F
Haziran	11,7 jk	16,65 ij	24,78 gh	20,25 hı	18,35 F
Temmuz	16,72 ij	23,41 ghı	36,78 ef	30,25 fg	26,80 D
Ağustos	21,25 hı	26,32 gh	46,10 bc	37,91 de	32,90 C
Eylül	24,40 gh	29,00 g	51,10 ab	42,25 cde	36,69 B
Ekim	25,40 gh	51,26 ab	54,78 a	44,25 bcd	43,91 A
Anaç Ort.	16,61 D	23,50 C	33,01 A	27,50 B	*
Önem Der.			*		
LSD (0,05)			2,690		3,558

Anaç*Ay LSD (0,05): 7.11 *: %5 düzeyinde önemli, Ö.D: Önemli Değil

Farklı anaçlar üzerindeki Domat zeytin çeşidine ait bitkilerin fidan özelliklerinin incelendiği çalışmada sürgün uzunlukları da incelenmiş, sürgün uzunluğu en fazla çöğür anacı üzerindeki bitkilerde olmuştur (Çizelge 3). Bunu ayvalık anacı üzerindeki bitkiler izlerken en az gelişim ise 1 ve 3 yaşlı Gemlik anacı üzerine aşılı bitkilerde görülmüştür. Çizelgeden de inceleneceği gibi aşılı bitkiler üzerindeki en fazla sürgün gelişimi Eylül ve Ekim aylarında olmuştur. Başlangıca göre en fazla sürgün uzunluğu gelişimi ise %1758,27 ile Ayvalık anacı üzerine aşılı bitkilerinde görülmüştür. Buna göre sürgün büyümesi çöğür anacında ilk aylarda hızlı bir gelişim gösterirken diğer anaçlar üzerine aşılı bitkilerin sürgünleri de büyüme ilerleyen aylarda daha fazla olduğu ifade edilebilir.

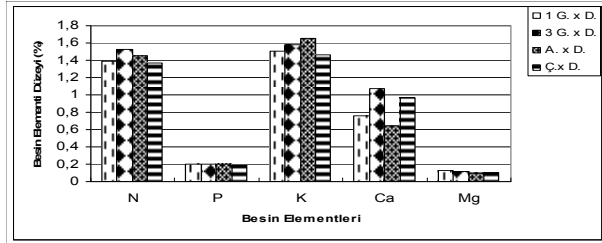
Aşıl原因 bitkilerin fidan boyu ölçümleri dikkate alındığında en fazla gelişimin Çöğür ve 3 yaşlı

Gemlik anacı üzerine aşılı olan bitkilerde olduğu saptanmıştır (Çizelge 4).

Özellikle aşıl原因 periyodundan sonraki ilk aylarda fidan boyundaki gelişim, Çöğür üzerine aşılı olanlarda diğerlerine oranla daha hızlı olduğu gözlenmiş bunu Ayvalık üzerine aşılı olanlar izlemiştir. Ancak ölçüm tarihinin sonunda 3 yaşlı Gemlik üzerine aşılı olan bitkilerin fidan boyu bu iki anaç üzerindeki ulaşmıştır. Buradan da görüldüğü gibi üç farklı anaç üzerine aşılı Domat çeşidinde fidan büyümesinin başlangıçta farklılık göstermesine karşın zaman ilerledikçe benzer büyüklüğe eriştiği saptanmıştır.

Farklı anaçlar üzerine aşılı bitkilerindeki makro besin elementlerinden Azot miktarının çöğür anacı ile 1 yaşlı Gemlik anacında sırasıyla %1,37, %1,39 olarak düşük değerler göstermiştir. 3 yaşlı Gemlik

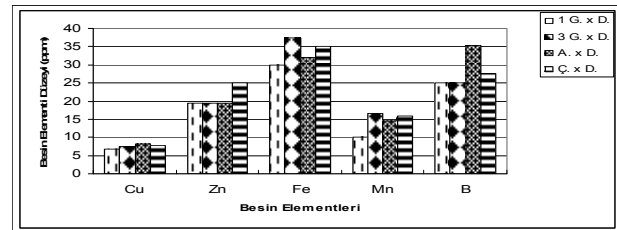
ve Ayvalık anacında % 1,53, % 1,45 değerler ile Püskülcü'nün (1989) belirttiği gibi kabul edilen sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Farklı anaçlar üzerine aşıl原因 Domat zeytin çeşidinin makro besin maddesi düzeyleri

En yüksek Azot içeriği 3 yaşlı Gemlik anacı üzerine bulunurken, en düşük Azot çöğür anacı üzerine hesaplanmıştır. Benzer sonuçlar Potasyum alımı içinde görülmüş anaçlar arasında en yüksek değerleri 3 yaşlı Gemlik ve Ayvalık anaçları göstermiştir. Anaçlar arasındaki Fosfor alımı düzeyleri arasında çok yakın değerler saptanmıştır ki hepsinin de kabul edilen sınır değerler arasında olduğu görülmektedir (Püskülcü, 1989). Dört farklı anaç üzerindeki tüm bitkilerde de kalsiyum ve magnezyum alımının normal olarak beslenen bitkilerde bulunması gereken değerlerden daha az olduğu saptanmıştır. Mikro element düzeyleri arasında anaçlar arasında önemli farklılık olmadığı görülmektedir (Şekil 3). Özellikle tüm anaçlar üzerindeki bitkilerde demir ve mangan kapsamları kabul edilebilir sınırların altında olmuştur. Bakır,

çinko ve bor konsantrasyonlarının ise tüm anaçlarda Püskülcü (1989)'nün belirttiği normal olarak beslenen zeytin yapraklarındaki bulunması gereken değerler arsasında olduğu görülmektedir.



Şekil 3. Farklı anaçlar üzerine aşıl原因 Domat zeytin çeşidinin mikro besin maddesi düzeyleri

Sonuç

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre çelikten zor köklenen Domat çeşidi pratikte uygulanan çöğür anacı üzerine aşıl原因masının yanı sıra, çelikten kolay köklenen Gemlik ve Ayvalık gibi zeytin çeşitleri üzerine de aşıl原因abileceği ortaya çıkmaktadır. Özellikle 3 yaşlı Gemlik anacı üzerinde başarılı bir aşı tutma ve sonraki dönemde iyi bir fidan gelişimi olacağını söylemek mümkündür.

Teşekkür

Bu araştırmanın yürütülmesinin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Edremit Zeytincilik Üretim İstasyonu Müdürü Sayın Mehmet Balcı ve emekleri geçen tüm personele sonsuz teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

- Bremner, J. M., 1965. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. In Ed. Black American Society of Agronomy, Inc. Pub. Argon Series, No.9 Madison, Wisconsin, U.S.A.
- Dikmen, İ., Uluskan, A., 1982. Önemli Zeytin Çeşitlerimizde Sisleme Metodu İle Çeliklerin Köklenme Nispetleri ve Uygun Köklendirme Vasatlarının Tespiti. Araştırma Özetleri. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Yayınları. No:62 Bornova- İzmir, 37s.
- Kacar, B., 1971. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri II. Bitki Analizleri. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara 646 s.
- Kaplankıran, M., Demirköser, T. H., Toplu, C., Ülbeği, E. Ve Uysal, M., 1982. Valencia Portakallarında Anaç Kalem İlişkilerinin Yapraklardaki Bitki Besin Maddelerine Etkileri. Türkiye 3. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 1999. Ankara, 93 s.
- Kaynaş, N. 1995. Sisleme Yöntemiyle Zeytin Fidanı Üretimi. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 72, 22 S.
- Özen, Y., 2002. Domat Zeytin Çeşidinin Kontrollü Şartlar Altında Köklü ve Köksüz Klon Anaçlar Üzerine Aşıl原因arak Çoğaltılması. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Zeytincilik Araştırma Enstitüsü. İzmir, 2002.
- Özkaya, T.M., ve Çelik, M., 1999. Domat ve Gemlik Zeytin Çeliklerinde Farklı Uygulamaların Köklenme Süresince Karbonhidratların Değişimi Üzerine Etkisi. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 208-211. Ankara.

- Püskülcü, G., 1989. Zeytinlerde Gübreleme Programlarının Hazırlanması. Zeytin Yetiştiriciliği Kursu, Zeytincilik Araştırma Ens. Yayın No: 48, s. 110-119.
- Raviv, M., Reuveni, O. and Goldschmidt, E. E., 1986. Evidence for The Presence of a Native Non-Auxinic Rooting Promoter in Avacado (*Persea americana* Mill). *Plant Growth Reg.*, 4: 95-102.
- Shobolul, A., Mendilcioğlu, K. 1985. Zeytinin Yarı Odun Çeliği ve Tohumla Çoğaltma Olanakları Üzerine Bir Araştırma. *E.Ü.Z.F.Dergisi*. 222, 1.49-60.
- Tekintaş, E. F., Seferoğlu, G., Dolgun, O. ve Günver, G., 1999. Aşılı Köklü Zeytin Fidanları Üzerine Araştırmalar. Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu, Bursa, 382 s.
- Uluskan, A., Aykas, B. ve Özilbey, U., 1986. Zeytinlik Tesisinde Kullanılan Materyalin (Aşılı Fidan ve Çelikten Üretilen Fidan) Mukayesesi. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. İzmir.
- Wolf, B., 1971. The Determination of Boron in Soil Ekstracts, Plant Materials, Composts Manues Water anda Nutrient Solutions, *Soil Sci.and Plant Analysis* 2. 363-374.

İLETİŞİM

Sorumlu yazar: Nilüfer KALECİ
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi
E-posta: nkaleci@comu.edu.tr

Gemlik Zeytin Çeşidi (*Olea europaea* L.) Çeliklerinde *Trichoderma harzianum* Uygulamalarının Kök Gelişimi, Fidan Kalitesi ve Karbonhidrat Birikimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Determination of the Effects of *Trichoderma harzianum* Applications on the Root Growth, Nursery Plant Quality and Carbohydrates Reserves of Gemlik Olive (*Olea europaea* L.) Cuttings

Selcan TAŞÇI¹, Mehmet Ali GÜNDOĞDU¹, Engin GÜR², Murat ŞEKER¹

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale

¹Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

²Lapseki Meslek Yüksek Okulu, Lapseki-Çanakkale

Geliş tarihi: 10.11.2010

Kabul tarihi: 23.12.2010

Özet

Bu çalışmada; Gemlik zeytin çeşidinin çeliklerinde *Trichoderma harzianum* uygulamalarının kök gelişimi, fidan kalitesi ve karbonhidrat birikimi üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Uygulama yaklaşık 2800 adet zeytin çeliğine yapılmış olup, 5 farklı uygulama ve her uygulamada 10 adet olmak üzere, toplam 300 adet çelik seçilmiş, 15 gün aralıklarla kontrol edilmek üzere kullanılmıştır. Uygulama; köklenme öncesi toz uygulama (10g/L), köklenme sonrası toz uygulama (10g/L), köklenme sonrası bandırma yöntemiyle granül uygulama, köklenme sonrası harca karıştırma yöntemiyle granül uygulama ve kontrol olmak üzere 5 farklı şekilde yapılmıştır. *Trichoderma harzianum* uygulamalarının Gemlik zeytin çeliklerinde kök sayıları ile gelişimini arttırmada etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Özellikle uygulamalar içerisinde köklenme sonrası zeytin çeliklerinin köklerinin *Trichoderma harzianum* izolatu içeren Granül Simderma®'ya bandırılması uygulamasının kök sayısı, kök uzunluğu ve kök yaş ağırlığı üzerine olumlu etkilerde bulunduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, *Olea europaea* L., *Trichoderma harzianum*, çelikle çoğaltma, köklendirme.

Abstract

In this study, the effects of *Trichoderma harzianum* applications on the root growth, nursery plant quality and carbohydrates reserves of Gemlik olive cuttings were determined. The applications were done in 2800 cuttings in total with five different applications of *Trichoderma harzianum*. The selected 300 cuttings were observed during the study and 10 cuttings were taken from each applications in 15 days intervals. The *Trichoderma harzianum* applications were as follows: powder application on basal section of cutting before rooting, powder application on basal section of cutting after rooting (200 g / 20 L), granule application on the rootlets of cuttings after rooting, granule mixing application in root growth media after rooting and control. According to the obtained results, *Trichoderma harzianum* applications were affected positively on the rooting performance of olive cuttings by increasing of root numbers per cuttings. The granule applications on the rootlets of cuttings after rooting (Granule SimDerma®) were provided better results among *Trichoderma* applications. This application provided increasing of root growth, root width and lateral root density. So, granule *Trichoderma harzianum* application after rooting was proposed for better olive plant quality.

Keywords: Olive, *Olea europaea* L., *Trichoderma harzianum*, cutting propagation, rooting.

Giriş

Çok yıllık bitkilerde genetik yapının devamını sağlayacak şekilde çoğaltmanın önemi nedeniyle, çoğunlukla vejetatif çoğaltma yöntemleri (aşı, çelik

köklendirme, daldırma gibi) kullanılmaktadır. Ancak bitkilerin bu yöntemlere gösterdikleri tepkiler cins, tür ve hatta çeşidin genetik yapısı ve fizyolojik durumuna göre değişiklik göstermek-

tedir. Bu nedenle, her bitkinin ticari olarak çoğaltılabileceği bir veya daha fazla çoğaltma yöntemi bulunmaktadır (Özkaya, 1990). Vejetatif çoğaltma yöntemlerinin büyük çoğunluğu, yüzyıllardır bilindiği ve kullanıldığı halde, çelikle çoğaltma halen en ekonomik klonal çoğaltma yöntemi durumundadır (Davies ve Hartmann 1988).

Bazı toprak mikroorganizmaları bitki kökleri üzerinde yerleşir ve çoğalırlar. Bu mikroorganizmalar bitki köklerinde barınmalarına karşılık olarak bitkiye çeşitli faydalar sağlarlar. Bu doğal karşılıklı kazanım stratejisi simbiyoz olarak adlandırılmaktadır. Monokültürel tarım, pestisitler ve kimyasal gübreler gibi etkenler sonucunda doğal denge bozulmakta ve toprakta bitkileri güçlendiren mikroorganizmaların sayıları azalmaktadır. Mikrobiyal gübreleme bu doğal mikroorganizmaların çoğaltılarak uygun bir formülasyonda bitkilere verilmesidir. Bu işlemde, mikroorganizmaların bitki köküne ulaşip orada tutunmasını sağlayacak önlemlerin alınması gerekmektedir (Anonim, 2008).

Günümüzde ticari olarak kullanılan bazı mikroorganizmalar vardır. Bunlardan; *Rhizobium*, *Mycorrhizae*, *Azospirillum*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Azotobacter chroococcum*, *Fosfobakteriler*, *Pseudomonas* sp. ve *Trichoderma* sp. en çok kullanılan ticari mikroorganizmalardır (Anonim, 2008).

Trichoderma bitki kökleri üzerinde hızla çoğalır ve kökleri bir zırh gibi kaplayarak köklerin gelişimine katkıda bulunmaktadır. Köklerdeki gelişme toprak üstü aksama da yansiyarak bu kısımların daha iyi gelişmesini ve bitkinin daha hızlı olgunlaşmasını sağlar. Bunun yanında güçlenen köklerin daha derine inmesinden dolayı kuraklığa karşı gösterilen mukavemet de artmaktadır. Ayrıca *Trichoderma* türleri bitki gelişimini hızlandırdığı gibi bitki savunma mekanizmalarını stimule ederek, bitkileri toprak kaynaklı patojenlere karşı dirençli hale getirdiği ve çeşitli antibiyotik bileşikler ürettiği için biyokontrolde tercih edilmektedir (Schirmböck ve ark., 1994). Fasulye, biber, domates, patlıcan turp, salatalık gibi birçok sebze de görülen toprak kaynaklı hastalıkları kontrol etmede kullanılan *Trichoderma* izolatları günümüzde de, kimyasal fungusitlere alternatif olarak kullanılmaktadır (Basım ve ark, 1999; Whipps ve Davies, 2000).

Bu çalışmada; Gemlik zeytin çeşitlerinin çeliklelerinde *Trichoderma harzianum* uygulamalarının kök gelişimi, fidan kalitesi ve karbonhidrat birikimi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışmada bitki materyali olarak, Edremit Zeytinçilik Üretim, Eğitim ve Gen Merkezi Müdürlüğünden temin edilen 1 yaşlı yarı odunsu Gemlik zeytin çelikleri; uygulama materyali olarak ise Simbiyotek A.Ş. tarafından temin edilen Sim Derma Granül® (200 g) ve Sim Derma Toz® (200 g) kullanılmıştır.

Yöntem

Çalışma; Edremit Zeytinçilik Üretim, Eğitim ve Gen Merkezi Müdürlüğü köklendirme seralarında yapılmış ve tüm çelikler uygulama öncesi daha iyi köklenmeleri amacıyla 3000 ppm IBA çözeltisi ile muamele edilmiştir. Çelikler; 0,45m³lük perlit ortamına 200 g (1 kutu) Sim Derma Granül® doğrudan karıştırılmış ve 200 g Sim Derma Toz® 20 lt su içinde eritilerek zeytin çeliklerine uygulanmıştır. Gemlik çeşidine ait zeytin çeliklerine yapılan 5 uygulama kısaca şu şekilde özetlenebilir.

a) Köklenme sonrası toz uygulama; zeytin çeliklerinin oluşan yeni adventif köklerine *Trichoderma harzianum* izolatu içeren, su içinde çözünmüş (200 g/20 L) Toz Sim Derma®'ya bandırılması şeklinde gerçekleştirilmiştir (Toz-1).

b) Köklenme öncesi uygulama; *T. harzianum* izolatu içeren, 200 g Sim Derma Toz® hem zeytin çeliklerine IBA muamelesinden sonra bandırma ile hem de çeliklerin köklendirilmesinde kullanılan perlit ortamına serperek karıştırma ile gerçekleştirilmiştir (Toz-2).

c) Köklenme sonrası granül uygulama-1; zeytin çeliklerinin perlit ortamında köklenmesinin ardından, saksılara şaşırtılması aşamasında *T. harzianum* izolatu içeren 200 g Sim Derma Granül®'ün harca karıştırılması şeklinde uygulanmıştır (Granül-1).

d) Köklenme sonrası granül uygulama-2; "köklenme sonrası toz uygulama"da anlatıldığı gibi

zeytin çeliklerinin köklerinin *T. harzianum* izolatu içeren 200 g Sim Derma Granül®'e bandırılması biçiminde gerçekleştirilmiştir (Granül-2).

e) Kontrol; *T. harzianum* izolatu içeren SimDerma® ile uygulama yapılmayan zeytin çelikleridir (Kontrol).

Uygulama yapılan yaklaşık 2800 adet çelikten altı dönem değerlendirmeye alınmış olup, her dönemde beş uygulama için ölçümler yapılmış ve her uygulamada rastgele seçilen 10'ar adet örnek kullanılmıştır. Toplam 300 adet zeytin çeliği bu çalışma çerçevesinde değerlendirilmiştir.

Çalışma, beş uygulama ve her uygulamada 60 çelik olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmıştır. İstatistikî analizler SAS yazılımı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda, önem derecelerine göre ortalamalar arasındaki farklılığın belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde farklar arasındaki önemlilik düzeyi, %5 (*, önemli) ve %1 (**, çok önemli) olarak ifade edilmiştir (SAS, 1998).

Çelikler köklendirme ortamına dikildikten sonra 15'er günlük periyotlarla (10 Şubat 2009 – 30 Nisan 2009 tarihleri arasında) 10 adet çelikte; kök sayısı (adet/çelik), kök uzunluğu (cm), fidan çapı (mm), sürgün sayısı (adet), bitki boyu uzunluğu (cm), yaş ağırlık (g), kuru ağırlık (g) parametrelerine bakılmış ve ortalama değerleri alınmıştır. Bunların yanında indirgen şeker içeriği (%), toplam şeker içeriği (%), nişasta analizi (%) yapılmış olup örneklerin toplam şeker ve nişasta miktarlarının toplanmasından elde edilen toplam karbonhidrat miktarı (%) da belirlenmiştir (Kaplankıran, 1984; Kaplankıran ve ark., 1985).

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Zeytin çeliklerinin köklendirilmesi aşamasında, kontrol bitkisi dahil olmak üzere 5 farklı şekilde *Trichoderma harzianum* uygulaması yapılmıştır. Belli dönemler halinde yapılan ölçümler ve değerlendirmeler sonucu uygulamalar arasında istatistikî anlamda önemli farklılıkların olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan uygulamalarda, dönemsel değerlendirmeler dikkate alındığında, her dönemde “Granül-

2” uygulamasının diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu, kök sayısındaki artışın tüm dönemlerde en fazla bu uygulamada olduğu istatistikî olarak belirlenmiştir (Çizelge 1).

Şubat dönemi incelendiğinde Granül-2 ve Toz-1 uygulamasının, kök sayısını arttırmada etkili olduğu gözlenmiştir. 1. ölçüm döneminde 8,20 adet/bitki ortalama gösteren Toz-2 uygulamasının, 11,80 adet/bitki ortalamaya sahip olan Kontrole göre; yine 2. ölçüm döneminde ise 11,50 adet/bitki ortalama gösteren Granül-1 uygulamasının 13,10 adet/bitki ortalama gösteren Kontrole göre daha az etkili olduğu saptanmıştır. Sonraki dönemlerde Kontrol bitkilerinin kök sayısındaki artışların, *T. harzianum* uygulaması yapılan bitkilere oranla daha az olduğu görülmüştür (Çizelge 1). Mart döneminde, (3. ve 4. ölçümler), 19,10 adet/bitki ve 19,40 adet/bitki değerleri gösteren Granül-2 uygulamasının sadece 13,80 adet/bitki ve 14,80 adet/bitki ortalamalar gösteren Kontrole göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte Nisan döneminde, (5. ve 6. ölçümlerde), ise 19,30 ve 19,40 adet/bitki ile Granül-1 ve 19,40 ve 20,10 adet/bitki ile Granül-2 uygulamalarının 13,50 ve 16,10 adet/bitki değerlerine sahip Kontrole göre daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. 5. ölçümde uygulamalar incelendiğinde ise 15,30 adet/bitki değeri ile Toz-2 uygulamasının 13,50 adet/bitki gösteren kontrolden istatistikî olarak farklı olmadığı görülmüştür (Çizelge 1).

Yapılan uygulamalarda, kök uzunluğundaki artışın 6 gözlem döneminde en fazla Granül-2 uygulaması yapılan çeliklerde olduğu ve bunun istatistikî olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Kök uzunluğundaki artışlar incelendiğinde 1. ölçüm döneminde 31,50 cm ortalamaya sahip olan Kontrol uygulaması, 20,70 cm ortalama gösteren Toz-2, 26,00 cm ortalama gösteren Granül-1 ve 28,80 cm ortalama gösteren Toz-1 uygulamasından daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak, 40,90 cm ortalama değere sahip Granül-2 uygulamasına göre daha etkisiz olduğu gözlenmiştir. 2. ölçüm döneminde ise 35,30 cm ortalamaya sahip Granül-1 uygulaması; 34,50 cm ortalama gösteren Kontrol uygulaması ve 34,60 cm ortalamaya sahip Toz-1 uygulaması ile istatistiksel olarak farklı olmamasına rağmen 53,80 cm ortalama gösteren Granül-2 uygulaması yine en etkili değerlere sahip uygulama

olmuştur. 3. ölçüm döneminde 60,80 cm ortalamaya sahip Granül-2 uygulaması sırasıyla 46,20 cm, 43,40 cm, 42,10 cm ve 38,40 cm ortalamalar veren Granül-1, Toz-2, Kontrol ve Toz-1 uygulamalarından daha etkili olduğunu göstermiştir. 4., 5. ve 6. ölçüm dönemlerinde ise sırasıyla 68,10 cm, 76,40 cm ve 82,30 cm ortalamalar gösteren Granül-2 uygulaması yine en etkili uygulama olmasına rağmen sırasıyla 61,00 cm, 77,20 cm ve 79,20 cm ortalamalar gösteren Granül-1 uygulaması ile istatistiksel olarak önemli bir farklılığın bulunmadığı gözlenmiştir. Buna rağmen diğer uygulamalar ve kontrole nazaran tüm dönemlerde en iyi kök uzunluğunu veren uygulamanın Granül-2 uygulaması olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmada bütün uygulamalara IBA hormonu aynı dozda (3000 ppm) uygulanmış olmasına rağmen, kontrol bitkisine göre kök sayılarının, kök uzunluklarının ve kök yoğunluğunun artışı tamamen *T. harzianum* uygulamasından kaynaklanmaktadır.

Belli dönemler halinde yapılan ölçüm ve değerlendirmeler sonucu fidan çapı, bitki uzunluğu ve sürgün sayısı açısından uygulamalar arasında fark olmadığı, istatistikî olarak önemsiz olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 2).

Çalışmada elde edilen değerlerin ışığında, belirli dönemlerde gerçekleştirilen ölçümler sonucunda uygulamaların zeytin çeliklerinin köklerinin yaş ağırlığına etki ettikleri belirlenmiştir. Özellikle Mart döneminden sonra tüm uygulamalarda artış olduğu, sonuç olarak da Kontrole göre önemli düzeyde istatistikî fark olduğu belirlenmiştir. Şubat döneminde ise uygulamalar arasında fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 3).

Yapılan uygulamaların kök kuru ağırlığına etkilerinin belirlenmesi amacıyla belli dönemler halinde yapılan ölçümler ve değerlendirmeler sonucu istatistikî anlamda uygulamalar arasında fark olduğu gözlemlenmesine rağmen önem derecesinin çok fazla olmadığı görülmektedir (Çizelge 3).

Çizelge 1. Uygulamalardaki zeytin çeliklerinin farklı dönemlerdeki kök sayıları (adet) ve kök uzunlukları (cm)

Uygulamalar	Kök Sayısı (adet)						Kök Uzunluğu (cm)					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
KONTROL	11,80 ab	13,10 ab	13,80 b	14,80 b	13,50 b	16,10 b	31,50 ab	34,50 b	42,10 bc	45,40 bc	48,40 c	62,20 b
GRANÜL 1	11,50 ab	11,50 b	16,20 ab	17,10 ab	19,30 a	19,40 a	26,00 b	35,30 b	46,20 b	61,00 a	77,20 a	79,20 a
GRANÜL 2	12,80 a	18,10 a	19,10 a	19,40 a	19,40 a	20,10 a	40,90 a	53,80 a	60,80 a	68,10 a	76,40 a	82,30 a
TOZ-1	10,70 ab	16,80 ab	15,80 ab	16,30 ab	16,40 ab	18,20 ab	28,80 b	34,60 b	38,40 c	41,30 c	51,60 bc	66,20 b
TOZ-2	8,20 b	14,10 ab	14,70 ab	15,20 ab	15,30 b	17,40 ab	20,70 b	28,60 c	43,40 bc	47,50 bc	57,00 bc	61,60 b
P	*	*	*	*	*	*	**	**	**	**	**	**

Farklı harflerle aynı sütunda gösterilen ortalamalar birbirinden önemli düzeyde farklıdır. (* p<0.05, ** p<0.01, Ö.D.: Önemli Değil)
I: 10 Şubat 2009, II: 25 Şubat 2009, III: 12 Mart 2009, IV: 27 Mart 2009, V: 13 Nisan 2009, VI: 30 Nisan 2009

Çizelge 2. Uygulamalardaki zeytin çeliklerinin farklı dönemlerdeki fidan çapları (mm), sürgün sayıları (adet) ve bitki uzunluğu (cm)

Uygulamalar	Fidan Çapı (mm)						Sürgün Sayısı (adet)						Bitki Uzunluğu (cm)					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
KONTROL	7,17	7,34	7,74	7,60	7,70	7,28	2,40	3,10	3,70	3,80	3,80	3,80	26,80	29,20	31,10	31,70	32,40	34,10
GRANÜL 1	6,87	7,06	7,17	8,32	8,40	8,63	2,70	3,20	4,20	4,30	4,30	4,20	27,35	29,80	30,10	33,20	35,60	36,60
GRANÜL 2	7,15	7,64	7,23	7,25	7,62	8,65	2,00	2,20	4,40	4,10	4,30	4,30	28,10	30,50	30,70	32,60	35,10	38,40
TOZ-1	6,63	8,22	8,24	8,65	8,81	8,24	3,00	3,30	4,30	4,20	4,30	4,40	26,25	28,60	32,40	33,10	35,20	36,70
TOZ-2	7,23	7,37	7,36	7,20	7,63	7,14	2,60	3,10	4,10	4,50	4,50	4,60	26,39	29,50	30,30	32,60	34,30	36,10
P	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

Farklı harflerle aynı sütunda gösterilen ortalamalar birbirinden önemli düzeyde farklıdır. (* p<0.05, ** p<0.01, Ö.D.: Önemli Değil)
I: 10 Şubat 2009, II: 25 Şubat 2009, III: 12 Mart 2009, IV: 27 Mart 2009, V: 13 Nisan 2009, VI: 30 Nisan 2009

Çizelge 3. Uygulamalardaki zeytin çeliklerinin farklı dönemlerdeki kök yaş ağırlığı (g) ve kök kuru ağırlığı (g)

Uygulamalar	Kök Yaş Ağırlığı (g)						Kök Kuru Ağırlığı (g)					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
KONTROL	3,60	3,94 ab	6,39 a	7,41 b	11,10 b	13,70 b	0,611	0,873	1,960 a	1,031 b	2,914 b	3,293b
GRANÜL 1	2,67	5,54 a	5,17 a	9,38 a	15,24 a	18,20 a	0,421	0,683	1,101 ab	1,508 a	3,826 a	4,254 a
GRANÜL 2	3,98	4,35 ab	4,93 ab	9,99 a	18,60 a	21,30 a	0,543	0,926	0,983 b	1,391 a	3,354 a	3,424 ab
TOZ-1	3,68	3,50 b	3,97 b	9,25 a	16,44 a	19,47 a	0,624	0,868	1,045 b	1,480 a	3,596 a	4,117 a
TOZ-2	2,39	3,92 ab	4,34 ab	9,86 a	17,37 a	18,71 a	0,350	0,586	1,218 ab	1,554 a	3,592 a	4,034 a
P	Ö.D.	*	*	*	*	*	Ö.D.	Ö.D.	*	*	*	*

Farklı harflerle aynı sütunda gösterilen ortalamalar birbirinden önemli düzeyde farklıdır. (* p<0.05, ** p<0.01, Ö.D.: Önemli Değil)
I: 10 Şubat 2009, **II:** 25 Şubat 2009, **III:** 12 Mart 2009, **IV:** 27 Mart 2009, **V:** 13 Nisan 2009, **VI:** 30 Nisan 2009

Çizelge 4. Uygulamalardaki zeytin çeliklerinin farklı dönemlerindeki indirgen şeker (g/100 g), toplam şeker (g/100 g) ve nişasta miktarları (g/100 g)

Uygulamalar	İndirgen Şeker (g/100 g)						Toplam Şeker (g/100 g)						Nişasta Miktarı (g/100 g)					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
KONTROL	-	0,08	0,09	0,011	0,09	0,09	-	0,27	0,29	0,32	0,25	0,28	-	0,14	0,2	0,18	0,16	0,19
GRANÜL 1	-	0,09	0,09	0,09	0,12	0,09	-	0,28	0,28	0,17	0,32	0,34	-	0,21	0,18	0,15	0,21	0,23
GRANÜL 2	-	0,011	0,09	0,09	0,011	0,08	-	0,33	0,31	0,31	0,33	0,33	-	0,21	0,22	0,21	0,22	0,23
TOZ-1	-	0,11	0,09	0,09	0,11	0,09	-	0,37	0,26	0,23	0,31	0,29	-	0,14	0,16	0,17	0,19	0,18
TOZ-2	-	0,08	0,11	0,13	0,12	0,13	-	0,29	0,28	0,36	0,26	0,29	-	0,11	0,17	0,17	0,13	0,14
p	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

Farklı harflerle aynı sütunda gösterilen ortalamalar birbirinden önemli düzeyde farklıdır. (* p<0.05, ** p<0.01, Ö.D.: Önemli Değil)
I: 10 Şubat 2009, **II:** 25 Şubat 2009, **III:** 12 Mart 2009, **IV:** 27 Mart 2009, **V:** 13 Nisan 2009, **VI:** 30 Nisan 2009

Yıldız ve Benlioğlu (2009)'nun yapmış olduğu çalışmada, tek başına *T. harzianum* uygulanmış bitkilerin kuru ağırlığının kontrole göre %32 arttığı belirtilmiştir.

Ozbay ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada 18 günlük domates fidelerine *T. harzianum* uygulandıktan 6 hafta sonra fidelerde yapılan gerçek yaprak sayısı, köklerin ve gövdenin yaş ve kuru ağırlığı, gövde çapı ve sürgün uzunluğu karşılaştırmaları sonucu özellikle köklerin yaş ve kuru ağırlıkları arasındaki farklılıkların önemli olduğu belirtilmiştir. Bu sonuç tarafımızdan gerçekleştirilen araştırmanın sonuçlarını desteklemektedir.

T. harzianum uygulamaları sonucunda zeytin çeliklerinin köklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde önemli sayılabilecek bir farklılığa rastlanmamıştır. Uygulamaların indirgen şeker, toplam şeker ve nişasta içerikleri üzerine etkilerinin ista-

tistikî bakımdan önem taşımadığı görülmüştür (Çizelge 4). Ancak, uygulama yapılan zeytin bitkilerinin daha uzun bir süre izlenmesi bu parametrelerde de farklılıkların izlenmesine yol açabileceği düşünülmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Günümüzün artık klasikleşmiş biyoteknolojik uygulamalarında *Trichoderma harzianum* toprak kökenli bitki patojenlerine karşı hem biyolojik mücadele etmeni hem de kimyasal fungusitlere alternatif olarak kullanılmaktadır (Inbar ve ark. 1994; Basım ve ark. 1999; Yedidia ve ark. 2000, Whipps ve Davies, 2000).

Farklı zamanlarda yapılan çeşitli denemeler sonucunda toprağa fungal ve bakteriyel antagonistlerin uygulanmasıyla ilaç kullanımı olmaksızın tamamen ekolojik yöntemlerle toprak hastalıklarının

biyokontrolünde, özellikle de *Sclerotium cepivorum* etmeninde, *T. harzianum*'un en etkili mikroorganizmalardan biri olduğu belirtilmiştir (Abd-El-Moity ve Shatla, 1981; De Oliveira ve ark., 1984; Chet, 1987; Ghaffar, 1988; Abd-El-Moity, 1992; Kay ve Stewart, 1994).

Trichoderma'nın bir başka özelliği de toprakta fosfor, mangan, bakır, demir gibi maddeleri çözümlenir bir forma dönüştürmesidir. Böylece kökler ihtiyacı olan bu besin maddelerini topraktan kolaylıkla kazanabilmekte ve bitkinin büyüme hızı artmaktadır. Köklerdeki büyümeyi engelleyen HCN gibi maddeler de *Trichoderma* tarafından zararsız formlara dönüştürülmekte ve bu sayede kimyasal gübreleme gereksinimi de azalmaktadır (Duffy ve ark., 1995; Harman ve ark., 2004; Diby ve ark., 2005).

T. harzianum uygulamalarının Gemlik zeytin çeliklerinde kök sayılarının artışında özellikle Granül-2; köklenme sonrası zeytin çeliklerinin köklerinin Granül Simderma®'ya bandırma şeklinde yapılan uygulamanın diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Granül formundaki *T. harzianum*'un zeytin çeliklerine yerleşmesi için gereken süre boyunca daha uzun bir süre beslenebildiği ve canlılık yeteneğinin kaybolmadığı düşünülmektedir.

Uygulamada *T. harzianum*'un kök gelişimini hızlandırmasında, kök kalınlığının artmasında ve saçak köklerin fazlalaşarak toprağa daha iyi tutunmasını sağlamasında etkili olduğu tespit edilmiştir.

T. harzianum'un zeytin çeliklerine uygulanmasında, köklenme sonrasında uygulamanın yapılması ve granül formda, direkt köklerine temas etti-

rilmesi, kök sayısının ve kök uzunluğunun artmasında daha etkili olduğu görülmüştür. Tüm uygulamalarda *T. harzianum*'un fidan çapına, sürgün sayısına ve bitki uzunluğuna etkilerinin olmadığı, istatistikî olarak önemsiz olduğu görülmüştür. Uygulamalarda zeytin çeliklerinin köklerinin yaş ağırlığına etkileri kontrole göre farklılık yarattığı görülmüş olmasına rağmen *T. harzianum* uygulanan tüm uygulamalarda fark olmadığı belirlenmiştir. Buradan *T. harzianum* uygulamasının zeytin çeliklerinin köklerinin yaş ağırlığına etkisinin olabileceği ayrıca uygulama şekli ve zamanına göre de *T. harzianum* etkilerinde farklılık gözlenebileceği sonucuna varılmıştır.

Uygulamalarda biyokimyasal analizlerin önemli sayılabilecek bir farklılığa neden olmadığı tespit edilmiş, ancak daha detaylı sonuç elde edilebilen HPLC yöntemlerinin kullanılması tavsiye edilebilir.

Bu çalışmanın sonucunu dikkate alarak, zeytin çeliklerinin daha iyi bir kök yapısına sahip olabilmesi, topraktan en iyi performansı sağlaması ve sağlıklı bir bitki gelişimi gösterebilmesi için çeliklerin köklenmesinden sonra köklerin, *Trichoderma harzianum* izolatu içeren granül formdaki materyale direkt bandırılması şeklinde uygulaması önerilebilir.

Teşekkür

Çalışmaya katkılarından dolayı Edremit Zeytincilik Üretim, Eğitim ve Gen Merkezi Müdürlüğü yetkililerine ve Simbiyotek Biyolojik Ürünler San. ve Tic. A.Ş.'den Sayın Şems YONSEL'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abd-El-Moity, T.H., Shatla. M.N., 1981. Biological Control of White Rot Disease of Onion (*Sclerotium cepivorum*) by *Trichoderma harzianum*. Phytopathologische Zeitschrift. (100): 29 – 35.
- Abd-El-Moity T.H. 1992. The Use of *Trichoderma spp.* to Control Soil-Borne Pathogens in Egypt. (Tjamos E.S., Papavizas G.C. ve RJ Cook, editörler) Biological Control of Plant Diseases Progress and Challenges For The Future. NATO ASI Series A: Life Sciences, Volume 230. Plenum Press, NewYork. (pp255–258)
- Anonim, 2008. (http://www.simbiyotek.com/Mikrobiyal_Gubreler_yonsel.pdf)

- Basım, H., Öztürk Ş.B., Yeğen O., 1999. Biyolojik Bir Fungisit (Planter Box *T. harzianum Rifaii T22*)'in Pamuk Fide Kök Çürüklüğü Etmenlerine (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*) Karşı Etkinliğinin Araştırılması. GAP I. Tarım Kongresi, Şanlıurfa, s. 137-144.
- Chet, I., 1987. *Trichoderma*: Application, Mode of Action and Potential as a Biocontrol Agent of Soilborne Plant Pathogenic Fungi. Chet I (editör) Innovative Approaches to Plant Disease Control (pp 137–160) Wiley-Interscience, NewYork.
- Davies, FT, Hartmann HT, 1988. The Physiological Basis of Adventitious Root Formation. Acta Hort. 227. 113-120.
- De Oliveira VL, Bellei M. De M., Borges A.C., 1984. Control of White Rot of Garlic By Antagonistic Fungi Under Controlled Environmental Conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 30: 884–889.
- Diby P., Saju K. A., Jisha P. J., Sarma Y. R., Kumar A. and Anandaraj M., 2005. Mycolytic Enzymes Produced by *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici*, The Foot Rot Pathogen of Black Pepper (*Piper nigrum* L.). Ann. Microbiol., 55 (2): 45-49.
- Duffy B. K., Simon A. and Weller D. M., 1995. Combination of *Trichoderma koningii* with Fluorescent Pseudomonads for Control of Take-all on Wheat. Phytopathology 86: 188-194.
- Ghaffar, A. 1988. Biological Control of Sclerotial Diseases. Mukerji KG ve Garg KL (editörler). Biocontrol of Plant Diseases, Vol. 1 (pp153–175) CRC Press, Boca Rat'on, Florida.
- Harman, G. E., Lorito M. and Lynch J. M., 2004. Uses of *Trichoderma* spp. to Alleviate or Remediate Soil and Water Pollution. Advances in Applied Microbiology Vol. 56, 2004, Pages 313 – 330.
- Inbar, J., Abramsky D.C., Chet I., 1994. Plant Growth Enhancement and Disease Control By *Trichoderma harzianum* in Vegetable Seedling Grown Under Commercial Conditions. *Plant Pathology*. (100): 337– 446.
- Kaplankıran, M., 1984. Bazı Turunçgil Anaçlarının Doğal Hormon, Karbonhidrat ve Bitki Besin Madde Düzeyleri ile Büyüme Arasındaki İlişkiler Arasındaki İlişkiler Üzerinde Araştırmalar (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana (Yayınlanmamış).
- Kaplankıran, M., Özsan M., Tuzcu Ö., 1985. Bazı Turunçgil Anaç x Kalem Etkileşmesinin Karbonhidrat Düzeylerine Etkileri, *Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi* 9(3): 261-268
- Kay, S.J., Stewart A., 1994. Evaluation of Fungal Antagonists For Control of Onion White Rot in Soil Boxtrials. *Plant Pathology* (43): 371–377.
- Ozbay, N., Newman S.E., Brown W. M., 2004. The Effect of the *Trichoderma harzianum* Strains On The Growth of Tomato Seedlings. *Acta Horticulturae*, (ISHS) (635):131–135.
- Özkaya M.T. 1990. Problems of Propagation Methods and New Propagation Techniques in Olive and Some Other Fruit Trees, Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Greece, 53p.
- SAS Institute, 1998. SAS/STAT Guide for Personal Computers, SAS Institute Inc. 100 SAS Campus Drive Cary, NC-USA.
- Schirmböck, M., Lorito M., Wang Y.L., Hayes C.K., Arslan-Atac I., Scala F., Harman G.E., Kubicek C.P., 1994. Parallel Formation and Synergism of Hydrolytic Enzymes and Peptaibol Antibiotics, Molecular Mechanisms Involved in the Antagonist Action of *T. harzianum* Against Phytopathogenic Fungi. *Appl Environ. Microbiol.* (60): 4364–4370.
- Whipps, J.M., Davies, K.G. 2000. Biocontrol of Plant Pathogens and Nematods by Microorganisms. Gurr G., Wratten, SD (editörler). Measures of Success in Biological Control. Kluwer, Dordrecht, pp 231–269.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y., Chet, I., 2000. Induction and Accumulation of PR Proteins Activity During Early Stages of Root Colonization By The Mycoparasite *Trichoderma harzianum* Strain T203. *Plant Physiology Biochemistry*, 38, 863-873.
- Yıldız, A., Benlioğlu S., 2009. *Trichoderma harzianum*'un Pamuklarda Çökerten (*Rhizoctonia solani* Kühn.) ve *Verticillium* Solgunluğu Hastalığı (*Verticillium dahliae* Kleb.)'na Etkisinin *İn vivo* Koşullarda Saptanması, (<http://www.dergi.adu.edu.tr/ziraatdergi/cilt06/1.pdf>)

İLETİŞİM

Doç. Dr. Murat ŞEKER
 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
 Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Çanakkale
 E-posta: sekerm@gmail.com

Bazı Sofralık Zeytin Çeşitlerimizin Toplam Fenolik Madde Miktarları ve İşleme Tekniklerinin Bu Bileşikler Üzerine Etkileri

The Determination of Total Phenol Quantities of Some Turkish Table Olive Varieties and the Effects of Processing Methods on These Compounds

Şahnur IRMAK, Ferište ÖZTÜRK GÜNGÖR, Erkan SUSAMCI

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, Sofralık Zeytin Teknolojisi Bölümü, Bornova-İZMİR

Geliş tarihi: 24.11.2010

Kabul tarihi: 25.12.2010

Özet

Bu çalışmada, ülkemiz için önemli sofralık zeytin çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi ve farklı işleme tekniklerinin fenolik maddeler üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen sofralık zeytinlerimizden Ayvalık, Gemlik, Domat, Memecik ve Uslu zeytin çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Zeytin çeşitleri, hem hasat zamanlarında ham zeytin halinde, hem de uygun işleme tekniklerine göre tatlandırılmış ve tüketime hazır hale getirilmiş sofralık zeytin halindeyken toplam fenol, pH, asitlik (%), tuz (%), acılık ve indirgen şeker (%) içerikleri açısından değerlendirilmiştir. Zeytin çeşitlerinin toplam fenol miktarlarına sofralık zeytin işleme tekniklerinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Özellikle çizme tipi, İspanyol tipi ve oksidasyonla karartılan zeytin tipi işleme metotlarının polifenol miktarlarını önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin çeşitleri, Sofralık zeytin işleme, Toplam fenol.

Abstract

In this research it was aimed to determine the amount of total phenolic substances of some table olive varieties important for our country and to state the effects of different processing methods on phenolic substances. Ayvalık, Gemlik, Domat, Memecik and Uslu, which are extensively growing table olive varieties in our country, were used as material in the research. Olive varieties were evaluated in terms of pH, acidity(%), salt(%), reducing sugar(%) and total phenolic quantities both at their harvesting time when they were raw and after they were processed according to suitable processing methods. The effects of table olive processing methods on total phenol quantities of olive varieties were found statistically important ($p < 0,01$). It was determined that especially split olive, Spanish style and olives darkened by oxidation processing methods considerable reduced the amount of polyphenolic substances.

Keywords: Olive varieties, Table olive processing, Total phenol.

Giriş

Zeytin, düşük miktarda şeker içeriği, yüksek oranda yağ içeriği ve kendine has acı tadı ile farklı bir meyvedir (Mafra ve ark., 2006). Zeytini tek çekirdekli meyvelerden ayıran özellikleri, diğer tek çekirdekli meyveler % 12 gibi yüksek oranda şeker, %1-2 oranında yağ içerirken, zeytinin %2-6 ora-

nında şeker ve %20-35 oranında yağ içermesidir. Zeytini diğer meyvelerden ayıran en önemli özelliklerden biri de “oleuropein” denilen, zeytine doğal acılık tadını veren glikozidik maddenin sadece zeytinde bulunmasıdır. Zeytin meyvesi etinde % 1-3 oranında C₂-C₆ gibi basit fenol yapılı fenolik bileşikler ile flavonoid ve secoiridoidler de

bulunmaktadır (Marsilio ve ark., 2001). Bu bileşiklerin ilk tanımlanması oleuropein'dir (Brenes ve ark., 1992a). Oleuropein, zeytinin en önemli biyoaktif bileşiği olup, bir polifenol, 4-(2-hidroksietil)benzene-1,2 diol diğer ismi ile hidroksitirozol, elenolik asit olarak bilinen bir secoiridoid ve bir glikoz molekülü olmak üzere 3 yapıdan oluşur ve antiatherojenik, antikanser, antienflamatuvar ve antimikrobiyal etkileri ile insan sağlığı açısından önemlidir (Gikas ve ark., 2007; Rivas ve ark., 2000).

Akdeniz beslenme kültüründe, biyofenolik bileşen varlığının antioksidan özelliği sayesinde zeytin, fonksiyonel bir değer kazanmaktadır. Zeytin ve zeytinyağının minör bileşenleri olan bu maddeler, suda çözünebilir bileşikler olup, antikanserojenik, antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuvar, antiviral, hipokolesterolemik ve hipoglisemik özelliklerinden dolayı önemli rollere sahiptirler. Sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan antioksidan etkili bu maddeler, besin kalitesi ve insan sağlığını olumlu yönde etki edici özelliklerinden dolayı oldukça çok ilgi çekmektedirler. Zeytin ve ürünleri gıda sanayinde olduğu kadar, tıbbi bitkiler endüstrisinde de doğal antioksidan özelliklerinden dolayı önemsenmektedir (Bastoni ve ark., 2001; Bianco ve ark., 1999; Bianco ve Uccella 2000; Garcia ve ark., 2000; Romani ve ark., 1999; Savarase ve ark., 2007).

Zeytin fenollerinin önemi sadece beslenme ile ilgili özelliklerinden değil, aynı zamanda yağın tadına ve serbest radikallerin koruyucu etkisi nedeniyle raf ömrünün uzamasına da katkıda bulunmaktadır. Ayrıca depolama sırasında hem duyuşsal hem de besinsel kalitesinin korunmasında önem arz etmektedir. Zeytinyağı ile ilgili pek çok çalışma yapılmasına rağmen zeytin meyvesiyle ilgili fazla çalışmanın olmaması nedeni ile henüz tam anlamıyla zeytin meyvesinin fenolik özellikleri açıklanamamıştır. Çok kompleks bir yapının oluşu, çeşitliliğin fazla oluşu, coğrafik, çeşitsel, işlemsel ve agronomik faktörler ile meyve olgunluk derecelerinin farklılığı bu verileri tam olarak ortaya çıkartma konusunda zorluklara sebebiyet vermektedir (Savarase ve ark., 2007).

Zeytin meyvesinin fenolik fraksiyonu kompleks bir yapıdır. Fenolik fraksiyon kalitesi ve bileşen dü-

zeyi, çeşide göre sezona bağlı olarak meyvenin gelişimi ve olgunlaşma süreci ile yakından ilgilidir. Sofralık zeytin ve zeytinyağları, içerdikleri fenolik antioksidan maddeler ile "fonksiyonel gıda" ların değerli bir kaynağı olarak anılmaktadırlar (Garcia ve ark., 2000; Marsilio ve ark., 2001) .

Fenolik maddeler, hidroksil gurubuna bağlı benzen halkası içeren 4000'in üzerinde farklı çeşitle sebze ve meyve gibi doğal ürünlerin önemli bileşenleri olarak doğada oldukça yaygın bulunan maddelerdir. Oksidasyon reaksiyonları gıda endüstrisinde olduğu kadar insan fizyolojisinde de büyük önem arz etmektedir (McDonald ve ark., 2001). Metalik iyonları bağlayan fenolik bileşikler, oksijeni nötralle ederek, yaşlanmaya yardım eden ve yaşlılığa bağlı gelişen hastalıklara yol açtığı bilinen serbest radikalleri bağlamaktadırlar. Serbest radikaller insan vücudunda doğal olarak üretilen, yüksek aktivitedeki bileşikler olup, sigara içilmesi ve radyasyona maruz kalma durumlarında artan maddelerdir. Bu radikallerin lipid, protein ve DNA'ya zarar vererek koroner kalp hastalıklarını ve kanseri başlattığı, fenolik bileşiklerin ise oksidasyona karşı LDL (Low Density Lipoprotein) proteinlerinin dayanıklılığını artırarak koroner kalp rahatsızlıklarında risk azaltıcı etkide bulunduğu bildirilmektedir (Gaulejag ve ark., 1999; McDonald ve ark., 2001; Romani ve ark., 1999; Visioli ve Galli, 1994; Romero C. ve ark., 2004; Sousa ve ark., 2006, Boskou ve ark., 2006). Oksidatif metabolizmanın kötü etkilerinin, fonksiyonel gıda adı verilen antioksidanlarca zengin diyetlerle iyileştirilebilmesi önemlidir (Garcia ve ark., 2000; McDonald ve ark., 2001). Akdeniz diyeti adıyla çağrılan bileşenler arasında bulunan fenolik bileşikler artık daha çok dikkat çekmektedir.

Fenolik bileşikler, antioksidan özelliklerinin yanı sıra tat, aroma, renk ve son ürünün raf ömrü üzerindeki olumlu etkileri sayesinde, sofralık zeytin ve zeytinyağında lezzet gelişimine bağlı olarak duyuşsal karakterizasyonun oluşumuna, otooksidasyona karşı stabilizeyi artırarak da kalite artışına etki eden birincil derecede öneme sahip maddelerdir (Bianco ve Uccella, 2000; Garcia ve ark., 2000; Kalua ve ark., 2005; Savarase ve ark., 2007). Zeytinlerdeki biyofenolik fraksiyon konsantrasyo-

nunun sofralık zeytin ve zeytinyağı gibi tarımsal ürünlerin organoleptik karakteristikleri ve tekstürü ile yakından ilgili olduğu belirtilmektedir (Bianco ve Uccella, 2000). Zeytinde bulunan fenolik bileşiklerin miktar ve çeşitlerine olan ilgi gittikçe önem kazanmaktadır (Romero ve ark., 2002b).

Bu çalışmada, ülkemiz için önemli sofralık zeytin çeşitlerinin (Ayvalık, Gemlik, Domat, Memecik ve Uslu) toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi ve farklı işleme tekniklerinin fenolik maddeler üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu projede materyal olarak, Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü koleksiyon bahçesinde yetiştirilmekte olan Ayvalık, Gemlik, Domat, Memecik ve Uslu zeytin çeşitlerinden 2008-2009 ürün döneminde hasat edilen ürünler kullanılmıştır.

Zeytinlerde hasat zamanları, çeşide uygun işleme tekniklerine göre belirlenmiştir. Buna göre, Domat zeytini Ekim ayı ilk haftasında, Ayvalık zeytini Ekim ayı üçüncü haftasında, Memecik zeytini Kasım ayı birinci haftasında, Gemlik ve Uslu zeytinleri ise Kasım ayı ikinci haftasında hasat edilmiştir.

Metot

Çeşidine ve uygulanacak olan işleme tekniğine göre hasat edilen zeytinlerin ham danelerinde; pH (Anonim, 2003), % asitlik (% laktik asit cinsinden, Anonim, 2003), indirgen şeker (Luff metodu, Uylaşer ve Başoğlu (2000)) ve acılık (Diez, 1972) analizlerinin yanı sıra, toplam fenol analizleri (Skerget ve ark., 2005) folin-ciocalteu metoduna göre yapılmıştır. Ham dane analizleri tamamlanan zeytinler, Türk Gıda Kodeksi Sofralık Zeytin Tebliği ne göre Çizelge-1'de belirtilen işleme tekniklerine göre tatlandırılmıştır (Anonim, 2008/24).

Sofralık tüketime hazır tatlandırılmış zeytinlerde de, temel kriterler olan pH, asitlik (laktik asit cinsinden), tuz (Anonim, 2003), indirgen şeker, acılık ve toplam fenol analizleri yapılmıştır.

Çizelge 1. Zeytin çeşitlerine uygulanan farklı işleme teknikleri

Zeytin Çeşidi	İşleme Teknikleri
Domat	Fermente yeşil zeytin (kostikli), doğal fermente çizme zeytin
Ayvalık	Doğal fermente çizme zeytin
Gemlik	Doğal fermente çevirme /yuvarlama tipi siyah zeytin
Memecik	Oksidasyonla karartma yoluyla salamura siyah zeytin (kostikli)
Uslu	Doğal fermente siyah zeytin

İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulguların istatistiksel analizi JMP 7.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İncelenen değişkenlere zeytin çeşidi ve işleme yöntemlerinin etkisinin anlamlı olup olmadığının belirlenebilmesi için varyans analizi yapılmıştır. Farklılığın derecesini belirlemek için ortalamalar, Student's t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Zeytinlerde tatlanma süresince pH, asitlik ve tuz kontrolleri yapılmıştır. Ham danedeki ve son ürün-deki pH, asitlik, tuz, acılık ve indirgen şeker miktarları Çizelge 2'de verilmiştir. Ham dane tespitlerinden sonra fermentasyon süresince kontroller yapılmış olup şartlar kısmen sabitlenmiştir. Fermentasyon süresi bitiminde de son ürün analizleri yapılarak zeytin çeşitlerinin ortam şartları tespit edilerek toplam fenolik madde açısından değerlendirilmiştir.

Zeytin Çeşitlerinin Toplam Fenolik Madde Miktarları

Ham zeytin çeşitlerinde yapılan toplam fenolik madde miktarı analizleri sonucunda, Uslu ham zeytini içerdiği 421,0 mgCAE/100g toplam fenolik madde miktarı ile diğer zeytin çeşitlerine göre daha zengin bulunmuştur. Uslu zeytin çeşidini sırası ile 274,9, 250,8, 208,2 ve 189,8 mg CAE/100g miktarları ile Gemlik, Ayvalık, Memecik ve Domat zeytini izlemiştir (Çizelge 3).

Çizelge 2. İşleme tekniklerine göre zeytin çeşitlerinin pH, asitlik, tuz, şeker ve acılık değerleri

Analizler	Zeytin Çeşitleri	İşleme Teknikleri					
		Ham x ± Sx	Doğal Fermente Siyah Zeytin x ± Sx	Doğal Fermente Çizme Zeytin x ± Sx	Doğal Fermente Çevirme Siyah Zeytin x ± Sx	Oksidasyon ile Karartılan Siyah Zeytin x ± Sx	Fermente Yeşil Zeytin x ± Sx
pH	Ayvalık	5,45 ± 0,05	-	3,94 ± 0,02	-	-	-
	Domat	5,46 ± 0,02	-	3,81 ± 0,03	-	-	4,02 ± 0,03
	Gemlik	5,68 ± 0,03	-	-	5,82 ± 0,02	-	-
	Memecik	5,57 ± 0,01	-	-	-	3,88 ± 0,02	-
	Uslu	5,61 ± 0,02	4,81 ± 0,03	-	-	-	-
%Laktik Asit Cinsinden Asitlik Değerleri	Ayvalık	0,22 ± 0,05	-	0,94 ± 0,09	-	-	-
	Domat	0,26 ± 0,12	-	0,98 ± 0,11	-	-	1,24 ± 0,07
	Gemlik	0,18 ± 0,04	-	-	0,36 ± 0,13	-	-
	Memecik	0,20 ± 0,11	-	-	-	0,87 ± 0,14	-
	Uslu	0,17 ± 0,09	1,05 ± 0,08	-	-	-	-
%Tuz Değerleri	Ayvalık	-	-	6,74 ± 0,39	-	-	-
	Domat	-	-	7,18 ± 0,53	-	-	8,64 ± 0,31
	Gemlik	-	-	-	5,42 ± 0,13	-	-
	Memecik	-	-	-	-	8,11 ± 0,17	-
	Uslu	-	11,18 ± 0,27	-	-	-	-
İndirgen Şeker Değerleri, (%)	Ayvalık	2,74 ± 0,08	-	0,34 ± 0,08	-	-	-
	Domat	3,37 ± 0,28	-	0,28 ± 0,03	-	-	0,18 ± 0,05
	Gemlik	2,85 ± 0,34	-	-	0,68 ± 0,10	-	-
	Memecik	3,55 ± 0,19	-	-	-	0,25 ± 0,03	-
	Uslu	3,55 ± 0,22	0,36 ± 0,09	-	-	-	-
Acılık Değerleri, (abs)	Ayvalık	1,381 ± 0,014	-	0,688 ± 0,021	-	-	-
	Domat	1,375 ± 0,080	-	0,436 ± 0,054	-	-	0,368 ± 0,031
	Gemlik	1,348 ± 0,065	-	-	0,486 ± 0,032	-	-
	Memecik	1,301 ± 0,019	-	-	-	0,423 ± 0,028	-
	Uslu	1,282 ± 0,043	0,336 ± 0,024	-	-	-	-

Çizelge 3. Zeytin çeşitlerine göre ham ve işlenmiş zeytinlerde toplam fenol ortalama değerleri (mgCAE/100g).

Zeytin Çeşitleri	İşleme Teknikleri					
	Ham x ± Sx	Doğal Fermente Siyah Zeytin x ± Sx	Doğal Fermente Çizme Zeytin x ± Sx	Doğal Fermente Çevirme Siyah Zeytin x ± Sx	Oksidasyon ile Karartılan Siyah Zeytin x ± Sx	Fermente Yeşil Zeytin x ± Sx
Ayvalık	250,8 ± 0,15		133,2 ± 0,39			
Domat	189,8 ± 0,22		147,1 ± 0,53			132,8 ± 0,31
Gemlik	274,9 ± 0,34	251,5 ± 0,10		244,1 ± 0,13		
Memecik	208,2 ± 0,19				175,8 ± 0,17	
Uslu	421,0 ± 0,23	394,9 ± 0,17				

İşlem görmüş zeytin çeşitlerinde ise en yüksek fenolik madde değeri 421,0 mgCAE/100g'dan 394,9 mgCAE/100g'a düşüş ile Uslu salamurada tespit edilmekle beraber en düşük değer 250,8 mgCAE/100g'dan 133,2 mgCAE/100g'a düşüşle Ayvalık çizme zeytininde tespit edilmiştir (Çizelge 3, Çizelge 4).

Keçeli ve Büyükaslan (2008) yaptıkları çalışmada Gemlik çeşidinin içerdiği toplam fenolik madde miktarını ilk hasatta 278, ikinci hasat döneminde ise 206 mgCAE/100 g olarak tespit etmişlerdir. Gemlik çeşidine ait toplam fenolik madde içeriği bu çalışmanın sonucuyla da uyum göstermektedir. Turan (2005) yaptığı çalışmada Sarı Ulak zeytininde toplam fenolik madde miktarını 286 mgCAE/100g olarak tespit etmiştir. Ben Othman ve ark. (2008), Tunus zeytin çeşitlerinde toplam fenol miktarını 144 ile 674 mgGA/100g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Visioli ve Gali (1998) zeytinlerde fenolik madde miktarının 50 ile 800 mg/kg olduğunu belirtmektedir. Görüldüğü gibi bu çalışmada elde edilen sonuçlar araştırmacıların bulunduğu sonuçlarla uyum göstermektedir.

Ayvalık çizme tipi işlenen zeytinlerde toplam fenolik madde miktarında % 46 ile çok fazla bir azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4). Bu durumun, Ayvalık zeytinine uygulanan çizme işlemi nedeni ile zeytin kabuğunda meydana gelen açıklıktan suda çözünebilen fenolik maddelerin daha hızlı bir şekilde salamuraya geçmiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, toplam fenolik madde oranında diğer zeytinlere göre tespit edilen yüksek

orandaki azalma, bu zeytinin çizme tipi işleme tekniğinde haftada bir olmak üzere tatlanana kadar salamura suyunun yaklaşık 5-6 hafta süre boyunca değiştirilmesinden de kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir.

Domat kostikli işleme tekniği ile oksidasyonla karartılan Memecik zeytininde toplam fenolik madde miktarlarında tespit edilen azalmalarda ise kostik uygulamasının etkili olduğu tahmin edilmektedir. Kostik işleminin zeytin meyvesinin kabuğunda meydana getirdiği geçirgenlik artışı ve doğrudan glukozitlerin hidrolizine sebebiyet vermesinden dolayı toplam fenolik maddenin azalmasını artırıcı yönde etki ettiği Brenes ve ark. (1995) tarafından da bildirilmektedir.

Fermentasyon sürecinin, zeytin salamurasındaki fenol konsantrasyonunun değişimine etki ettiği, oleuropeinin hidrolizi sonucunda oluşan bileşiklerden özellikle hidroksitirozol gibi suda yüksek çözünürlüğe sahip fenolik maddelerin zeytinin bünyesinden salamuraya geçişini kolaylaştırdığı, bu nedenle de toplam fenolik madde miktarını azaltıcı yönde etki eden bir faktör olarak değerlendirildiği de ifade edilmektedir (Brenes ve ark., 1995).

Fenolik maddelerin, zeytin dokusundan salamuraya geçişinde esas etkili olan faktörün geçirgenlik farklılıklarından kaynaklandığı belirtilmektedir. Olgunlaşma süresince zeytinlerin fenolik içeriğinin azaldığı ve zeytin çeşidine göre her bir fenolik bileşenin konsantrasyonunun değiştiği Brenes ve ark. (1992a) tarafından da belirtilmektedir.

Çizelge 4. Zeytin çeşitlerine göre, farklı işleme tekniklerinde toplam fenol miktarlarındaki değişimler (mgCAE/100g)

Zeytin Çeşitleri	İşlenmiş Ürün Çeşitlerine Göre % Azalmalar			
	Ham		İşlenmiş	% Azalma
Uslu	421,0	Doğal fermente siyah zeytin	394,85	6,2
Gemlik	274,91	Doğal fermente çevirme siyah zeytin	244,10	11,21
Memecik	208,2	Oksidasyon ile karartılan siyah zeytin	175,80	15,53
Domat	189,79	Doğal fermente çizme zeytin	147,10	22,33
		Fermente yeşil zeytin	132,80	30,3
Ayvalık	250,8	Doğal fermente çizme zeytin	133,20	46,83

Çizelge 5. Toplam fenolik madde miktarı açısından ham ve işlenmiş sofralık zeytin çeşitlerinde istatistiki gruplandırma (mgCAE/100g)

Zeytin Grupları											Ortalama Değerler
Uslu - ham	A										421,00
Uslu- işlenmiş		B									394,90
Gemlik- ham			C								273,23
Ayvalık- ham				D							250,80
Gemlik- işlenmiş					E						244,27
Memecik- ham						F					208,20
Domat- ham							G				189,80
Memecik- işlenmiş								H			175,80
Domat- çizme, işlenmiş									I		147,10
Ayvalık- işlenmiş										J	133,17
Domat- kostik, işlenmiş										J	132,80

Renk oluşumu sırasında hidrokstitirozol ve kafeik asitin polimerizasyonunun etkili olduğu ve siyah renk oluşumu aşamasında da fenolik madde kayıplarının olduğu bildirilmektedir (Brenes ve ark., 1992a; Brenes ve ark., 1992b).

Zeytin eti içerisinde tespit edilen en düşük toplam fenol bileşen içeriğindeki azalma ise doğal işleme metodlarında belirlenmiştir. Bu işleme tekniklerinin çok fazla işlem gerektirmemiş olmasının, fenolik madde kayıplarının daha düşük seviyelerde kalmasını sağladığı da düşünülmektedir. Bu bulgular, zeytine herhangi bir kimyasal veya fiziksel işlem uygulanmadığında, bileşiminde bulunan fenolik maddelerin oldukça iyi korunabildiğini göstermektedir.

Fenolik bileşikler, meyve ve yağda kompleks bir yapıdadırlar. Fenoller zeytinin bünyesinde ve işlemler sırasında glukozidaz yoluyla glikozitlerin hidrolizi, fenoloksidaz yoluyla fenollerin oksidasyonu ve serbest fenollerin polimerizasyonu gibi çeşitli modifikasyonlara uğrayabilmektedirler (Ryan ve ark., 1999).

Kaynaklar

Anonim, 2003. TS 774, Sofralık Zeytin Standardı

Anonim, 2008/24. Türk Gıda Kodeksi Sofralık Zeytin Tebliği

Bastoni, L., Bianco, A., Piccioni, F., Uccella, N., 2001. Biophenolic Profile in Olives by Nuclear Magnetic Resonance, Food Chemistry, 73, 145-151pp.

Ben Othman, N., Roblain, D., Thonart, P., Hamdi, M., 2008. Tunisian Table Olive Phenolic Compounds and Their Antioxidant Capacity, Journal of Food Science, 73, 235-239pp.

Toplam fenolik madde miktarı yönünden çeşitler arasındaki farklar ve işleme tekniklerinin toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi Çizelge-5'ten de görüldüğü üzere, $p < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Zeytin çeşitlerine uygulanan işleme tekniklerinin zeytinlerin toplam fenolik madde miktarında önemli bir azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir.

SONUÇ

Araştırma sonuçları sofralık zeytin işleme tekniklerinin, zeytinin toplam fenolik madde içeriğine belirgin bir etkisi olduğunu ve uygulanan işleme tekniklerinin zeytinin toplam fenol miktarında önemli bir azalma meydana getirdiğini göstermiştir. Ayrıca çizme zeytin işleme tekniğinin diğer doğal işleme tekniklerine göre zeytinde bulunan fenolik madde miktarını daha fazla azalttığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla zeytin işlemede çizme dışındaki doğal yöntemlerin kullanılması insan sağlığına daha faydalı etki yapacağından, doğal yöntemlerle zeytin işlemenin önem kazanacağı düşünülmektedir.

- Bianco A., Muzzalupo, I., Piperno, A., Romeo, G., Uccella, N., 1999, Bioactive Derivatives of Oleuropein from Olive Fruits, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3531-3534pp.
- Bianco A., Uccella N., 2000. Biophenolic components of Olives, *Food Research International*, 33, 475-485pp.
- Boskou, G., Salta, F.N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., Andrikopoulos, N.K., 2006. Antioxidant Capacity and Phenolic Profile of Table Olives from the Greek Market, *Food Chemistry*, 94, 558-564pp.
- Brenes, M., Garcia, P., Fernandez, A., 1992a. Phenolic Compounds Related to the Black Color Formed during the Processing of Ripe Olives, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1192-1196pp.
- Brenes, M., Garcia, P., Duran, M.C., Garrido, A., 1992b. Concentration of Phenolic Compounds Change in Storage Brines of Ripe Olives, *Journal of Food Science*, 58, No 2, 347-351pp.
- Brenes, M., Rejano, L., Garcia, P., Sanchez, A.H., Garrido, A., 1995. Biochemical Changes in Phenolic Compounds during Spanish- Style Green Olive Processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2702-2706pp.
- Diez, M. J. F., Fernandez, A. L., Cancho, F. C., Quintana, M. C. D. and Casanovas, J. L. C., 1972, *Elaboracion de aceitunas negras de me*, *Grassasy Aceites* 23, 91-93pp.
- Esti, M., Cinquanta, L., Notte, E., 1998. Phenolic Compounds in Different Olive Varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 32-35pp.
- Garcia, O.B., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del Rio, J.A., 2000. Antioxidant Activity of Phenolic Extracted from *Olea europaea* L. leaves, *Food Chemistry*, 68, 457-462pp.
- Gaulejac, N.S., Provost, C., Vivas, N., 1999. Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 425-431pp.
- Gikas, E., Bazoti, F.N., Tsaropoulos, A., 2007. Conformation of Oleuropein, the Major Bioactive Compound of *Olea europea*, *Journal of Molecular Structure, Theochem*, 821, 125-132pp.
- Kalua, C.M., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Bishop, A.G., Prenzler, P.D., 2005. Discrimination of Olive Oils and Fruits into Cultivars and Maturity Stages Based on Phenolic and Volatile Compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8054-8062pp.
- Keçeli, T., Büyüksan, Y., 2008. Hatay’da Yetiştirilen Bazı Zeytinlerin Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi, *Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum*.
- Mafra, I., Barros, A.S., Coimbra M.A., (2006). Effect of Black Oxidizing Table Olive Processing the Cell Wall Polysaccharides of Olive Pulp, *Carbohydr. Polim.*, 65, 1-8pp.
- Marsilio, V., Campestre, C., Lanza, B., 2001. Phenolic Compounds Change during California-Style Ripe Olive Processing, *Food Chemistry*, 74, 55-60pp.
- Mcdonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M., Robards, K., 2001. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts, *Food Chemistry*, 73, 73-84pp.
- Rivas, C.S., Espin, J.C., Wichers, H.J., 2000. Review Oleuropein and Related Compounds, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1013-1023pp.
- Romani, A., Mulinacci, N., Pinelli, P., Vincieri, F.F., Cimato, A., 1999. Polyphenolic Content in Five Tuscany Cultivars of *Olea europaea* L., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 964-967pp.
- Romero, C., Brenes, M., Yousfi, K., Garcia, P., Garcia, A., Garrido, A., 2004. Effect of Cultivar and Processing Method on the Contents of Polyphenols in Table Olives, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 479-484pp.
- Romero, C., Garcia, P., Brenes, M., Garcia, A., Garrido, A., 2002b. Phenolic Compounds in Natural Black Spanish Olive Varieties, *Eur. Food Res. Technol.*, 215, 489-496pp.
- Ryan, D., Robards, K., Lavee, S., 1999. Changes in Phenolic Content of Olive during Maturation, *Journal of Food Science and Technology*, 34, 265-274pp.
- Savarase, M., Marco, E.D., Sacchi, R., 2007. Characterization of Phenolic Extracts from Olives by Electrospray Ionization Mass Spectrometry, *Food Chemistry*, 105, 761-770pp.
- Skerget, M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A., Simoncic M., Knez Z., 2005. Phenols, Proanthocyanidins, Flavones and Flavonols in Some Plant Materials and Their Antioxidant Activities, *Food Chemistry* 89, 2, 191-198pp.
- Sousa, A., Ferreira I.C.F.R., Calheta, R., Andrade, P.B., Valentao, P., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., Pereira J.A., 2006. Phenolics and Antimicrobial Activity of Traditional Stoned Table Olives’Alcaparra’, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14, 8533-8538pp.
- Turan E., 2005. Sarı Ulak Tarsus Zeytini ve Siyah Çaydan Elde Edilen Fenolik Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana.

- Uylaşer, V., Başoğlu, F., 2000. Gıda Analizleri I-II Uygulama Kılavuzu, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama Kılavuzu No:9, Bursa, 119s.
- Vısiolı, F. and Galli, C., 1998. Olive Oil Phenols and Their Potential Effects on Human Health, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (10), 4292–4296pp.
- Vısiolı, F. and Galli, C., 1994. Oleuropein Protects LDL from Oxidation. Life Sciences, 55 (24), 1965 – 1971pp.

İLETİŞİM

Şahnur IRMAK
Zeytincilik Araştırma Enstitüsü,
Sofralık Zeytin Teknolojisi Bölümü,
Bornova-İZMİR
E-posta: sahnurirmak@hotmail.com

Türkiye Zeytinciliğinde Karasu Sorunu

The Problem of Olive Mill Waste Water in the Turkish Olive Industry

Renan TUNALIOĞLU¹, Tolga BEKTAŞ²

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Güney Kampusu, Aydın, Türkiye

²Southampton Üniversitesi, İşletme ve Hukuk Fakültesi, Southampton, SO17 1BJ, İngiltere

Geliş tarihi: 17.12.2010

Kabul tarihi: 26.12.2010

Özet

Zeytin meyvesi doğrudan tüketilemediği için farklı üretim teknolojileri kullanılarak yağa ya da sofralığa işlenmektedir. Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de zeytini yağa işlemek için farklı teknolojiler kullanılmaktadır. Bu teknolojilerde zeytin danesinden bir yandan zeytinyağı, diğer yandan yan ürünler elde edilmektedir. Bu yan ürünlerden biri de zeytinyağı teknolojisi sonrasında açığa çıkan ve karasu ismi verilen kahverengi renkli bir sudur. Karasu, elde edildikten sonra doğrudan kullanılmadığı için toprak veya suya verilerek çevre kirliliğine sebep olmaktadır. Zeytin üreticisi dünya ülkelerinin tümü karasuyu, zeytinyağı üretiminde bir sorun olarak kabul etmekte ve çözümü için farklı alternatifler kullanmaktadırlar. Karasu, dünya zeytin üretiminde dördüncü sırada yer alan ve bu manada önemli bir üretici ülke olan Türkiye’de de bir sorundur. Bu makalede, Türkiye’de ortaya çıkan bu sorun detaylı olarak anlatılarak çözümlenmesi anlamında ülke şartlarında neler önerilebileceği tartışılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Zeytincilik, Zeytinyağı Teknolojileri, Karasu

Abstract

Olive, as a fruit, cannot be consumed directly so it needs to be processed into either table or olive oil through various production technologies. As in the rest of the world, various processes are used in Turkey through which olive oil is extracted from olives. One of these processes yields, aside from the main product, a by-product which is the brown coloured Olive Mill Waste Water (OMWW). OMWW has no direct use and is generally disposed into soil or rivers. All olive producing countries acknowledge the problem of OMWW and consider various alternatives to resolve the problem. Being the fourth largest olive producing country in the world, Turkey also faces similar issues with OMWW. This paper describes these issues in detail and discusses possible ways of remedying the problem given the country’s status-quo.

Keywords: Olive; Olive oil process; Olive mill waste water

Giriş

Zeytin, Akdeniz iklim kuşağında yetiştirilen çok yıllık bir meyve türüdür. Zeytin meyvesi doğrudan tüketilemediği için yağa ve sofralığa işlenmektedir. Zeytinin işlenmesindeki bu zorunluluk ülkelerin tercihlerine göre değişmekle birlikte, dünya zeytin üretiminin %70’i yağlık, %30’u ise sofralık olarak değerlendirilmektedir (Tunalıoğlu ve Karahocagil, 2006). Zeytin, işlendikten sonra bir yandan gıda sanayisine hammadde sağlamakla iken diğer yandan işlenmesi sonrasında oluşan yan ürünler bazı

sorunlara sebep olmaktadır. Zeytin, en çok yağa işlendiği için en büyük sorun da zeytinyağı işleme teknolojisi sonrasında oluşmaktadır. Zeytinyağı teknolojisinde farklı sistemler kullanılmakla beraber hangi sistem olursa olsun işleme sonrasında pirina ve karasu olarak adlandırılan iki yan ürün elde edilmektedir. Bu ürünlerden pirina, ikinci bir işlemeden sonra gıda, endüstri ve enerji sektörlerine hammadde oluşturmakta, diğer yan ürün olan karasu ise henüz ekonomik anlamda değerlendirilememektedir (Tunalıoğlu ve Armağan,

2008). Bu nedenle karasu, zeytin ve zeytinyağı üretimi yapan ülkelerde çevreyi kirleten bir unsur ya da sorun olarak kabul edilmekte, AR-GE çalışmaları ise tam anlamıyla tamamlanmadığı için bilinen tek ve ekonomik bir çözümden de bahsetmek mümkün olamamaktadır. Söz konusu sorun, önemli zeytin üreticisi ülkelerin ekonomik ve siyasi yapılarına en uygun şekilde çözülmeye çalışılmaktadır (Tunalıoğlu, 2010). Bu çözümler ülkelerin zeytincilik sektöründeki mevcut yapısal organizasyonları ya da dünyadaki ekonomik entegrasyona üyeliklerine göre de değişim göstermektedir.

Bu çalışmada, karasu konusunda önemli üretici ülkeler ile birlikte Türkiye'nin mevcut durumu incelenmektedir. Bu incelemede, zeytinyağı eldesi için kullanılan işleme teknolojileri, karasuyun tanımı, dünyada ve Türkiye'de karasu sorununun çözümüne yönelik çözüm önerilerinin bulunduğu tartışma bölümleri yer almaktadır.

Zeytinyağında İşleme Teknolojisi

Sistemler

Zeytini yağa işlemek için kullanılan sistemler, klasik (geleneksel), modern (kontinü ya da sürekli) ve kombine sistemler olarak adlandırılmaktadır. Klasik sistemler, mengenerler ve presler olarak ayrılmaktadır. Presler ise kendi içerisinde kuru sistem (süper presler) ve sulu sistem (torbalı/hidrolik presler) olarak gruplandırılmaktadır. Modern ya da diğer adıyla Kontinü Sistemler ise iki fazlı, 2½ fazlı ve üç fazlı kontinü sistemler olarak üçe ayrılmaktadır. Bir diğer grup da farklı kombinasyonların yer aldığı "Kombine Sistemler" olarak tanımlanmaktadır. Söz konusu sistemler Yemiş-

çioğlu vd. (2001)'den yararlanılarak hazırlanan Tablo 1'de detaylı olarak gösterilmiştir

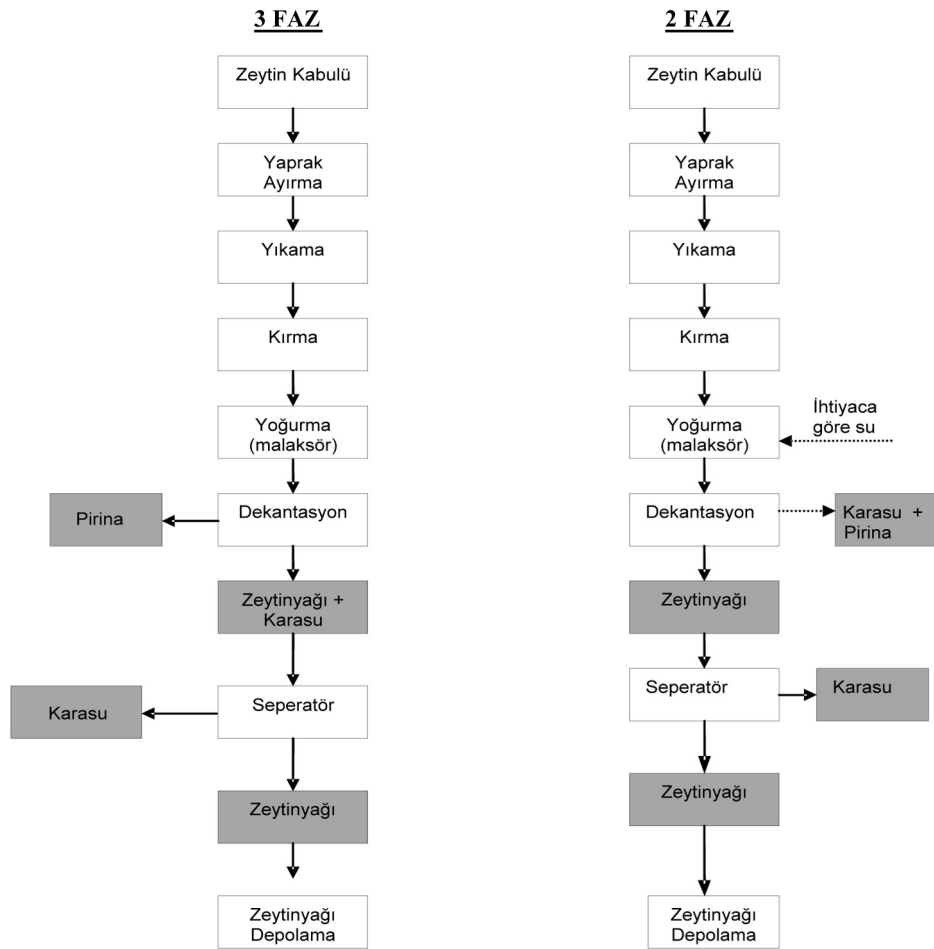
Teknoloji

Zeytini yağa işleme teknolojisinin prensibi temel olarak mezokarp hücrelerinde oluşan yağı açığa çıkarmak ve bu yağı zeytinin diğer bileşenlerinden ayırmaktır. Zeytin meyvesinin yaklaşık %40–55'i zeytin özsuyu, %18–31'i yağ ve %14–22'si çekirdektir. Zeytinyağı işletmesine gelen zeytinler taş, toprak ve yabancı maddelerden arındırıldıktan sonra yıkanmakta, bu işlemi takiben hücrelerinde bulunan yağ damlacıklarının açığa çıkarılması için kırma ve ezme işlemine tabi tutulmaktadır (TBMM, 2008). Zeytin ezildikten sonra mutlaka yoğrulmaktadır. Bu yoğrulma sırasında sisteme en az 25°C'lik sıcak su verilmektedir. Sisteme sıcak su verme işlemi katı/sıvı fazların ayrılması için hamurun hazırlanmasında önemli bir aşamadır. Yoğrulma işlemi tamamlanan zeytin hamurunun bünyesinde bulunan yağ fazının ayrılması için presler veya dekantör kullanılmaktadır. Modern (Kontinü) sistemlerde kullanılan dekantörler iki veya üç çıkışlı olabilmektedir. Yağ, karasu ve pirininin ayrı ayrı çıktığı sistemler *üç fazlı* olarak adlandırılırken, sadece yağ ve yüksek nem içeriğine sahip pirininin çıktığı sistemler *iki fazlı* olarak adlandırılmaktadır (Şengül vd., 2001). Şekil 1'de her iki sistem ayrıntılarıyla gösterilmektedir (TBMM, 2008). Günümüzde dünyada en çok modern sistem ve onun üç fazlı ve iki fazlı üretim işleme yöntemleri tercih edilmektedir. Üç fazlı sürekli sistemde ekstraksiyon sırasında bir ton zeytin için yaklaşık 600-700 litre su ilave edildiğinden, sistemden 1000–1200 litre civarında su çıkmakta, iki fazlı sürekli sisteme ise 200-250 litre su ilave edildiğinden çıkan su miktarı daha az olmaktadır (Uşaklı, 2010).

Tablo 1. Zeytinyağı üretimi için kullanılan sistemler

Klasik Sistemler	Modern Sistemler	Kombine Sistemler
1. Mengenerler	1. İki Fazlı Sistemler	1. Perkolasyon-Presleme Kombinasyonu
2. Presler	2. 2½ Fazlı Sistemler	2. Perkolasyon-Santrifüjleme Kombinasyonu
a. Süper Presler	3. Üç Fazlı Sistemler	3. Presleme-Santrifüjleme Kombinasyonu
b. Hidrolik Presler		4. İki Santrifüjleme

Kaynak: Yemişçioğlu vd, 2001.

Üç ve İki Fazlı Sistemin Akım Şeması**Şekil 1.** Üç ve iki fazlı kontinü sistem akış (Kaynak: TBMM, 2008)**Tablo 2.** Modern kontinü zeytinyağı sistemlerinde iki ve üç faz arasındaki girdi ve çıktı farklılıklarının karşılaştırması

Üretim şekli	Girdi		Çıktı	
	Bileşen	Miktar	Bileşen	Miktar
Geleneksel sıkma işlemi	Zeytin	1000 kg	Yağ	~ 200 kg
	Yıkama suyu	0,1–0,12 m ³	Katı atık (~%25 su + %6 yağ) Karasu (~%88 su)	~ 400 kg ~ 600 l
Üç fazlı dekantör	Zeytin	1000 kg	Yağ	200 kg
	Yıkama suyu + Dekantör temizleme suyu + Son yıkama suyu	0,1–0,12 m ³ 0,5–1 m ³ ~ 10 l	Katı atık (~%50 su + %4 yağ) Karasusu (~%94 su + %1 yağ)	500–600 kg 1000–1200 l
İki fazlı dekantör	Zeytin	1000 kg	Yağ	200 kg
	Yıkama suyu	0,1–0,12 m ³	Katı atık + karasu (~%60 su + %3 yağ)	800–950 kg

Kaynak: Şengül vd., 2002.

Sistemde katı/sıvı faz ayrımından sonra elde edilen zeytinyağı, bünyesinde bir miktar karasu içerdiğinden sıvı/sıvı faz ayrımı için separatörlerden geçirilmekte, bu işlemde sonra kimyasal ve duyuşal özelliklerine göre depolanmaktadır. Dünyada yaygın olarak tercih edilen sistemler arasındaki farklılıkların karşılaştırılması

Tablo 2’de verilmiştir (Şengül vd., 2002). Bu işleme yöntemlerinin tümünde zeytinin kendi bünyesinde bulunan suya ilaveten preslemeden önceki yıkama suyu ve hamur halinde iken verilen su sebebiyle sistemden mutlaka karasu çıkışı olmaktadır.

DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE KARASU

Karasu

Zeytin bitkisel suyu, zeytin vejetasyon suyu, zeytin artık suyu ve zeytin atık suyu gibi isimlerle adlandırılan karasu, yağlık zeytinin zeytinyağına işlenmesinden sonra açığa çıkan su olarak tanımlanmaktadır. Bir başka ifade ile karasu, zeytinyağı fabrikalarında zeytinyağı ve pirina ayrıldıktan sonra arta kalan koyu kırmızı renkli atık ya da artıktır. Karasu, klasik sulu pres ve üç fazlı modern sistem zeytinyağı fabrikalarında işlendiği takdirde pirinadan ayrı olarak elde edildiği için büyük miktarlarda, iki fazlı modern sistem zeytinyağı fabrikalarında ise sistemden pirina ile birlikte çıktığı için daha az miktarlarda açığa çıkmaktadır. Yapılan araştırmalarda karasuyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma uygulamalarından geçmeden kullanılmasının çevreye zarar verdiği görülmüştür. Karasuyun sıvı gübre, sulama suyu ya da yabancı ot kontrolü için kullanılması ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. Karasu, içeriğinde zeytin bitkisinin özsuğu olmasından dolayı iz elementler, potasyum, fosfor, organik bileşikler, yağ ve antioksidanlar içermektedir. Karasu, toplam katı madde ve tuzluluk değeri yüksek, pH'ı düşük bir organik maddedir ve N, P, K, ve Mg besin elementlerince zengindir. Karasu, zeytinin çeşidine, yetiştirilme şartlarına, toprak ve iklim özelliklerine bağlı olarak %83–96 oranında su, %3,5–15 oranında organik madde ve %0,5–2 oranında mineral tuz içermektedir. Bir başka ifade ile 1 m³ karasuda 6 kg organik madde, 3,5–11 kg K₂O, 0,6–2,0 kg P₂O₅, 0,15–0,5 kg Mg bulunmaktadır (İkizoğlu, 2007; Şengül vd., 2002; Tunalıoğlu vd., 2008; Seferoğlu vd., 2000). Karasu, organik maddelerce zengin olmasına rağmen sürdürülebilir bir kullanıma uygun hale getirilmedikçe sorun olarak kabul edilecektir.

Dünyada Karasu

Dünyada önemli zeytin üreticisi ülkeler butik zeytinyağı üretimi dışında genellikle modern sistemle üretimi tercih etmektedirler. İspanya iki fazlı modern sistemi tercih ederken, Yunanistan ve İtalya üç fazlı sistemi kullanmaktadırlar (Tunalıoğlu, 2010).

Karasu zeytin üreticisi ülkelerin tümünde kötü koku ve uçucu organik bileşenler sebebiyle çevreyi kirletici bir unsur olarak kabul edilmektedir. Karasu, İtalya'da 1996 yılındaki yasal düzenleme ile kontrol altına alınmıştır. Bu düzenleme ile karasu kontrollü olarak tarım arazilerine verilmekte ancak uzun dönemlerde toprak ve ürün kalitesinde olabilecek sorunlara yönelik olarak uygulamada sürekli değişiklikler yapmaktadır. İtalya'da uygulanan kanun çerçevesinde karasuyun tarım için kullanılan arazilere kontrollü olarak verilmesi ve bu işlemde en az 30 gün önce Belediye Başkanlığı'na Ziraat ve Jeoloji Mühendislerinin raporları ile birlikte bilgi verilmesi gerekmektedir. Ayrıca karasuyun araziye değil il ve ilçe kanalizasyonuna boşaltılması ya da silo, sarnıç, depo veya işletmelerin havuzlarında stoklanabilmesi durumunda yöre belediye başkanlığına en az 30 gün önceden bilgi verilmesi öngörülmektedir. Bu sürecin izlenmemesi durumunda Çevre Bakanlığı, Gıda ve Orman Bakanlıkları tarafından para cezası yaptırımları uygulamaktadır (TBMM, 2008). Yunanistan'da karasu konusunda İtalya benzeri yasal bir yaptırım olmamasına rağmen özellikle gübreleme ile ilgili olarak yoğun AR-GE çalışmaları yapılmaktadır (Niaounakis ve Halvadakis, 2006).

İspanya karasu sorununu üç faz sistemlerini iki fazlı sisteme dönüştürmekle çözmeye çalışmıştır. Mevcut zeytinyağı fabrikaları %90 oranında iki fazlı sisteme geçirilmiştir. İspanya'da faz değişimi ile karasu %50–60 oranında rutubetli pirina içerisinde sistemden çıktığı için miktar olarak azaltılmıştır (Miranda vd., 2007). Diğer yandan İspanya ve Yunanistan'da kullanılan üç fazlı sistemden çıkan karasular belirli süre sızdırmaz lagünlerde çökertme ve seyreltme işlemi ile birlikte sulama suyu olarak kullanılmaktadır. Karasuyun, benzer şekilde Suriye'de de sulama suyu olarak kullanılması için yapılan araştırmalar devam etmektedir (Mahmouda vd., 2010).

Karasu, ülkelerin farklı sistem tercihleri ve yasal mevzuatları çerçevesinde organik gübre, agrokimyasal ve hayvan yemi, aktif karbon üretiminde, enerji kaynağı olarak, protein ve gıda katkı maddesi olarak, yağ asitleri ve enzim elde etmede,

nanoteknoloji uygulamaları ile kozmetik, gübre, antioksidanlar, biokütle üretimi ve ilaç sanayinde kullanılmakta ya da bu konuda AR-GE çalışmaları yapılmaktadır. Devam eden AR-GE çalışmaları, pirinada olduğu gibi karasuyunda da farklı kullanım alanlarının bulunmasının sağlanabileceğini göstermektedir (TBMM, 2008).

Türkiye’de Karasu

Dünyada uygulanan zeytinyağı teknolojisine paralel olarak Türkiye’de de klasik sistemden ziyade modern sistemler, bu sistemlerden ise yaygın olarak iki ve üç fazlı kontinü sistemler kullanılmaktadır. Türkiye’de yaklaşık 1200 adet zeytinyağı işletmesi mevcuttur (TBMM, 2008). Bu işletmelerden miktarları var ve yok yıllarına göre değişmekle birlikte, hasat mevsiminde yaklaşık 1283,5 ton karasu çıkmakta, bu karasu doğrudan çevreye (göl, gölet, nehir, dere ya da toprak) deşarj edilmekte ya da işletmelerin yakınında oluşturulan farklı tipte çukurlarda (lagün vb) bekletilmektedir. Tablo 3, Türkiye’de çeşitli illere göre zeytinyağı üreten tesis sayısı, zeytinyağı üretimi ve çıkan atık su miktarını göstermektedir (Gördük, 2009).

Çukurlarda bekletilen ve suyu buharlaşan karasu, kek olarak yakıt veya gübre olarak kullanılmaktadır. Karasu konusunda Türkiye’de AR-GE çalışmaları devam etmektedir. Bu çalışmalar arıtma, gübreleme, biyoyakıt ve hayvan yemi olarak kullanılmakta, yabancı ot kontrolü, bazı bitki hastalık ve zararlılarına, özellikle de toprak nematoduna karşı denemeler yapılmaktadır (Gördük, 2009; Tunalioglu ve Armağan, 2008).

Karasuyun çevreye doğrudan deşarjı Türkiye’de genel bir sorundur. Türkiye’de birbirinden belli uzaklıklarda bulunan çok sayıda işletmenin çıkan karasuyu gelişigüzel olarak çevreye (toprak, akarsu, dere, göl vb) bırakması çevreyi kirletmektedir. Bu sebeple işletmelere Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından Avrupa Birliği (AB) taahhütleri sonrasında başlatılan sıkı denetimlerle idari ve para cezaları uygulanmaktadır (Tunalioglu, 2010).

Tablo 3. Türkiye’de başlıca zeytin üreticisi illere göre zeytinyağı üretim ve karasu miktarları

Önemli Zeytin Üreticisi İller	Tesis sayısı (adet)	Atık su miktarı (m ³ /yıl)
Aydın	155	26,820
Balıkesir	110	31,593
Bursa	288	210,400
Çanakkale	26	99,432
Hatay	88	200,460
İzmir	181	67,258
Manisa	232	51,396
Mersin	40	99,904
Muğla	91	496,200
Toplam	1211	1,283,463

Kaynak: Gördük, 2009’dan yararlanılarak hazırlanmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Karasu organik kaynaklı bir su olarak kabul edilmesine rağmen dünyada ve Türkiye’de çevre kirliliğine sebep olmaya devam etmektedir. Karasuya ilişkin sunulan çözüm seçenekleri belirlenirken mevcut zeytinyağı işleme sistemleri ve bu sistemlerin işletme maliyetlerinin dikkate alınması gereklidir. Bu belirleme yanında konunun sosyal maliyeti de dikkate alınmalıdır. Konu bu bağlamda değerlendirildiğinde çözüm seçenekleri aşağıdaki gibi özetlenmektedir.

1. Entegre tesisler kurmak: En ideal seçenektir. Bu sistemde zeytinyağı işletmesi, kurutma ünitesi ve stoklama ünitesinden oluşan pirina fabrikası, arıtma tesisi hatta sofralık zeytin işleme tesisi bir arada olacaktır. Bu tip bütünleşmiş tesisleri kurmak uzun süreli ve yüklü yatırımlar gerektirdiği için ciddi bir örgütlenme gerektirmektedir. Bu örgütlenme İspanya örneğinde olduğu gibi sektörün kooperatifleşmesi ile mümkün olacaktır. Bu öneride finansal kaynaklar yanında sosyal maliyet de tartışılmalıdır. Entegre tesis kurmak, halen özel sektörün ağırlıklı olduğu Türkiye zeytinciliği için uzun vadede önerilebilecek bir çözüm önerisidir ve uygulanması için zamana ihtiyaç vardır.

2. Üç fazlı zeytinyağı işletmelerinin belirli bir program çerçevesinde iki fazlı sisteme dönüştürülmesi: İki fazlı sistemde zeytinin çeşidi vb.,

özelliklerine göre üretime nispeten daha az su ilavesi gerektiğinden ve bu su pirina ile birlikte bertaraf edildiğinden atık su oluşumu yıkama sularıyla sınırlı kalmakta ve pirina %50–60 nem oranı ile çıkmaktadır. Bu yönüyle iki fazlı sistem çevrenin korunması anlamında karasu çözümü için geçerli ve kuvvetli bir seçenektir. Bu seçeneğin uygulanabilmesi için Türkiye’de mevcut üç fazlı zeytinyağı işletmelerindeki makinelerin iki faza dönüşüm maliyetlerinin (dönüşüm başına yaklaşık \$32–40,000) dikkate alınmalıdır. İki fazlı sistemde karasu pirina ile birlikte çıktığı için nispeten daha sulu olan pirinanın depolanabileceği bir alan, pirina fabrikalarının kurutma tesislerini arttırması gibi bazı düzenlemelerin de yapılması gerekmektedir. İki faz yönteminin uygulanmasında ortaya çıkabilecek diğer bir sorun ise nakliyesidir. Pirinanın nakliyesinin standart taşıma araçlarıyla yapılması mümkün olamayacağından sızdırmaz kasalı kamyonlara ihtiyaç olacaktır. Sonuçta; üç fazdan iki faza dönüştürmenin doğuracağı maliyet, pirina fabrikalarının ek kurutma tesisi kurulması ve yenilenmesi, sulu pirinanın taşıma maliyeti, stoklama maliyeti ve bununla birlikte iki faz işleme durumunda zeytinyağı fabrikalarının elde edecekleri gelirin yaklaşık %50 oranında azalacağı dikkate alınmalıdır (Polat, 2010). Bu çözüm için ciddi anlamda finansal kaynak gereklidir. Bu önerinin desteklenmesi için zeytinyağı fabrikalarına devlet desteği ile en az 5 yıllık bir geçiş programı oluşturarak bu süreçte işletmeler için yatırım desteği verilmesi gerekmektedir (TBMM,2008). Devlet desteği ve AB’nin kırsal kalkınma destekleri yanında zeytinyağı işletmelerinin bireysel destekleri de dikkate alınmalıdır.

3. Lagün İnşa Edilmesi: Zeytinyağı işletmelerinin üç fazlı olarak çalışmaya devam etmesi halinde diğer bir çözüm, her işletmenin lagün kullanmasıdır. Lagünlerin Çevre ve Orman Bakanlığının istemiş olduğu ölçülere uygun olarak inşa edilmesi durumunda geomembran tabanlı ve taban izolasyonu yapılmış buharlaştırma havuzları söz konusu olacaktır. Kısa sürede en uygun çözüm gibi görünen bu havuzların yanlış yatırımlara ve israflara sebep olmamasına dikkat edilmesi gereklidir (Eliçora, 2010). Özellikle arazi varlığının yetersiz

olduğu bölgelerde ve turizm alanlarında arazi fiyatları sebebiyle lagün inşası çok yüksek bir yatırım maliyeti gerektirecektir. Bununla birlikte lagünler, yaz döneminde koku ve sinek problemleri ortaya çıkarabilecek, yoğun yağışlı bölgelerde taşma riskleri oluşturabilecektir. Buharlaştırma sonrası elde edilen katı tortunun uzaklaştırılması ise lagünlerde başka bir problem olarak ortaya çıkacaktır.

4. Arıtma sistemlerinin kullanılması: Zeytinyağı işletmelerinin üç fazlı olarak kullanımının devamı durumunda karasuyun mutlaka arıtılması gerekmektedir. Bu seçenekte arıtma tesisi inşa ve işletme maliyeti ile Karasuyun toplanma ve taşınma maliyeti bu seçeneğin yatırım temelinin oluşturacaktır. Karasuyun arıtılmasına yönelik bu yönetim yaklaşımında her bir tesisten şahsî arıtma çözümleri beklemek yerine diğer atıkların bertarafı için esas alınan yaklaşıma benzer şekilde merkezi arıtma tesislerinin kullanılması önerilebilir. Çoğu küçük ölçekte ve birbirinden uzak bölgelerde kurulmuş zeytinyağı işletmelerinin atık suları toplanarak belirli bölgelerde kurulacak merkezi arıtma tesislerine getirilmesi ve arıtılması bir çözüm olarak önerilebilir. Bu yöntemin işletmeler açısından kabul edilebilir ve uygulanabilir olması için sistemin ‘Merkezi Arıtma, Toplama ve Buharlaştırma Havuzları’ şeklinde uygulanması ve bu tür tesislerin Organize Sanayi Bölgeleri (OSB) veya belediyelerin şehir atık su arıtma tesisleri civarı gibi arazi sıkıntısının olmadığı yerlerde kurulması teknik altyapı anlamında önemlidir. Böylece bu tesislerde bir ön arıtmadan geçen atık sular şehir atık su arıtma tesisine iletilerek biyolojik bir arıtmadan da geçirilebilecektir (Gördük, 2009).

Bu tesislerin kurulabilmesi işletmelerin şahsî çaba ve bilgileriyle gerçekleşmeyecektir. Bu sebeple zeytinyağı işletmelerinden katkı payı alınması veya devlet desteği ile tesislerin oluşturulması karasuyun uygun şekilde bertarafına yardımcı olacaktır. Arıtma yöntemi için Çevre ve Orman Bakanlığının uygulanabilir olarak önerdiği arıtma yöntemleri içerisinde en uygun teknolojilerden birisi filtrasyon (membran) teknolojisidir. Bunun yanında geri

kazanım ve kullanım için 20'den fazla değişik proses ya da teknolojinin varlığı bilinmektedir.

Karasuyun dünyada olduğu gibi Türkiye'de de bir çevre sorunu olduğu kabul edilmektedir. Son yıllarda devletin fidan desteği ile birlikte artan zeytin ağaç sayısına paralel zeytin ve zeytinyağı üretimi, dolayısı ile karasu miktarı da artmıştır. Önerilen çözümler arasında yapılacak seçimin

sosyal ve ekonomik olarak uygulanabilir olması ve bu çözümün devlet ya da siyasi otorite tarafından kabul edilerek destek verilmesi gerekmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 2010/1 BİDEB tarafından desteklenen 'Environmental Impacts and Solutions Olive Vegetable Water Investigation of Possibilities in Turkey: Aydın Province' isimli proje çerçevesinde hazırlanmıştır.

Kaynaklar

- Eliçora, T., 2010. Karasu Sorununa Genel Bakış. TARIŞ Zeytin ve Zeytinyağı T.S.K. Birliği. 1 Temmuz 2010. UZZK Toplantı Sunumu, İzmir, Türkiye.
- Gördük, Y., 2009. Zeytin Karasuyunun Bertarafına Yönelik Yapılan Çalışmalar. EBSO Sunum, İzmir, Türkiye.
- İkizoğlu, E., 2007. Engineering Approach to olive mill wastewater treatment plant Chania Tecnical University, Chania, Greece
- Mahmouda, M., Janssen, M., Haboub, N., Nassour, A. 2010. The impact of olive mill wastewater application on flow and transport properties in soils. Soil & Tillage Research 107, 36–41.
- Miranda, M.T., Cabanillas, A., S, Rojas., Ruiz, A. Montero. I. 2007. Combined Combustion of Various Phases of Olive Wastes in a Conventional Combustor. Fuel 86 367–372.
- Niaounakis, M., Halvadakis. C.P. 2006. Olive processing waste management. Literature Review and Patent Survey. Current Practices for Olive Processing Waste Management. Management Series 5. Second Edition.
- Polat, İ., 2010. Özel Görüşmeler. POLATAŞ A.Ş.Yönetim Kurulu Başkanı, Aydın. Türkiye
- Seferoğlu S., Aydın, B, G., Aydın, M., 2000. Effects of Vegetation Water of Oil Mills on Some Physical and Chemical Characteristics of Soils. In "Proceedings of International Syposium on desertification" Konya, Türkiye, s. 247–251.
- Şengül, F., Oktav, E. Çatalkaya, Ç. 2002. Zeytinyağı Üretim Prosesine Bağlı Olarak Oluşan Karasuyun Kirlilik Karakteristikleri ve Arıtım Teknolojileri, I. Zeytinyağı Üretiminde Çevre Sorunları ve Çözümleri Uluslararası Çalıştay, Zeytinli, Edremit, Balıkesir, s. 35–45.
- TBMM., 2008. 23. Dönem T.B.M.M. (11.03.2008–11.07.2008) Zeytin ve Zeytinyağı ile Diğer Bitkisel Yağların Üretiminde ve Ticaretinde Yaşanan Sorunların Araştırılarak Alınması Gereken Önlemlerin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan 10/27,34,37,40,102 Esas Numaralı Meclis Araştırması Komisyon Raporu, Ankara, Türkiye.
- Tunalıoğlu, R. Karahocagil, P., 2006. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Durum ve Tahmin, Durum ve Tahmin Raporu. TEAE Yayın No: 142, Ankara, Türkiye.
- Tunalıoğlu, R., Armağan, G., 2008. Aydın İlindeki Zeytinyağı İşletmelerinde Elde Edilen Yan Ürünlerin Tarım-Sanayi ve Çevre İlişkileri Boyutunda Değerlendirilmesi Türkiye VIII. Tarım Ekonomisi Kongresi Bildiri Kitabı. Cilt 2. Bursa, Türkiye.
- Tunalıoğlu, R., Seferoğlu, S., Armağan, G., 2008. The Weakest Ring of Olive Oil Production in Turkey: Olive Oil Mill Waste Water. VI. International Symposium On Olive Growing), Evora,Portekiz.
- Tunalıoğlu, R. 2009. Türkiye Zeytinciliği ve Pazarlama Politikaları: 2000–2010. Tarım 2015, Zeytin ve Zeytinyağı Sempozyumu, Yaşar Üniversitesi, Mayıs 2009, İzmir, Türkiye
- Tunalıoğlu, R., 2010. "Environmental Impacts and Solutions Olive Vegetable Water Investigation of Possibilities in Turkey: Aydın Province" TUBİTAK 2010/1 BİDEB Proje Teklif Raporu. Ankara, Türkiye.
- Uşaklı, I., 2010. Uşaklı Pirina Fabrikası, Özel Görüşmeler, Aydın, Türkiye
- Yemişçioğlu, F., Gümüşkesen, A. S., Otağ, R. M., 2001. Zeytinyağı Üretiminde Kullanılan Sürekli Sistemler ve Bu Sistemlerin Klasik Presleme Yöntemi ile Karşılaştırılması. TMMOB Gıda Mühendisliği Dergisi, 9, 26–31.

İLETİŞİM

Renan TUNALIOĞLU
Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Tarım Ekonomisi Bölümü, Güney Kampusu,
Aydın, Türkiye
E-posta: renan.tunalioglu@gmail.com

Pirinanın Enzim Tutuklanmasında Destek Maddesi Olarak Kullanılabilme Kapasitesi

Capacity of Using Olive Pomace as Support Material for Enzyme Immobilization

Yasin YÜCEL

Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 31040 Hatay, Türkiye

Geliş tarihi: 27.10.2010

Kabul tarihi: 27.12.2010

Özet

Bu çalışmada lipaz enzimi (*Thermomyces lanuginosus*) pirina üzerine kovalent bağlama metoduyla tutturulmuştur. *Thermomyces lanuginosus* enziminin en yüksek tutuklanma değeri 18.7 mg/g pirina olarak hesaplanmıştır. Destek maddesi üzerine tutturulan *Thermomyces lanuginosus* enzimi için en yüksek aktivite değeri 20.3 µmol pNP/ g pirina.dk ve en yüksek spesifik aktivite değeri ise 10.3 µmol pNP/mg enzim dk olarak belirlenmiştir. Enzim tutuklanması öncesinde ve sonrasında pirina destek maddesinin yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Enzim konsantrasyonu, çözelti pH'sı ve tampon çözeltisinin derişim değerlerinin lipaz tutuklanması ve aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin katı atığı (pirina), *Thermomyces lanuginosus*, Enzim tutuklanması, Destek maddesi

Abstract

In the present work, microbial lipase from *Thermomyces lanuginosus* was immobilized by covalent binding onto olive pomace. The maximum immobilization of *Thermomyces lanuginosus* was calculated as 18.7 mg/g olive pomace. The highest activity was obtained as 20.3 µmol pNP/ g olive pomace min. and also the highest specific activity was 10.3 µmol pNP/mg enzyme min. for *Thermomyces lanuginosus* which is immobilized on support material. The surface properties of the olive pomace support material were investigated by scanning electron microscopy (SEM) before and after enzyme immobilization. The effects of protein concentration, pH and buffer concentration on the immobilization and lipase activity were investigated.

Keywords: Olive pomace, *Thermomyces lanuginosus*, Lipase immobilization, Support Material

Giriş

Son yıllarda yüksek maliyetler nedeniyle enzimlerin uygun bir destek maddesi üzerine tutturularak defalarca kullanılabilmesi endüstriyel uygulamalar açısından önemli hale gelmiştir (Hasan ve ark., 2006; Yücel, 2010). Enzimlerin çeşitli metotlarla katı bir destek maddesine tutturulması önemli araştırma alanlarından birini oluşturmaktadır. Enzimlerin tekrar kullanımına ve elde edilen ürünün ortamdaki kolayca ayrılmasına imkân sağladığından ucuz ve kullanıma uygun enzim tutuklama tekniklerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Katalitik proseslerde enzim moleküllerinin katalitik

aktifliğini koruyarak tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak amacıyla bir destek maddesine fiziksel veya kimyasal tutturulmasına enzim tutuklanması denir (Yücel, 2008). Böylece enzimlerin tek kullanım yerine defalarca kullanılmasına olanak sağlanarak ekonomik açıdan büyük avantaj elde edilmiş olur (Guang ve ark., 2010; Öztürk, 2001).

Enzim tutuklanmasında kullanılan destek maddesi enzime kazandırdığı biyokimyasal, mekanik ve kinetik özellikler nedeniyle oldukça önemlidir. Destek maddesine tutturulan enzim reaksiyon ortamından kolaylıkla ayrılabilen ve sürekli

proseslere uygulanabilmektedir (Guang ve ark., 2010). Bir çok endüstriyel alanda kullanılan lipaz enzimi celite (Chang ve ark., 2007), Naylon-6 (Pahujani ve ark., 2008), yün lifleri (Monier ve ark., 2010), çitosan (Rodrigues ve ark., 2008) ve zeolit (Yağız ve ark., 2007) gibi farklı türlerdeki destek maddelerine başarılı bir şekilde tutturulmuştur. Enzimler destek maddelerine tutturulmadan önce destek maddelerinin aktive edilmesinde glutaraldehit oldukça çok kullanılmaktadır (Betancor ve ark., 2006). Glutaraldehit ile aktive olan destek maddesine bağlanan enzim çok daha sağlam ve kararlı olmaktadır (Yang ve ark., 2009).

Ülkemiz ekonomisi açısından zeytin tarımı, zeytin işleme ve zeytinyağı sektörü büyük önem taşımaktadır. Türkiye zeytin üretiminde İtalya, İspanya ve Yunanistan'ın ardından dördüncü sırayı almaktadır (Çetin ve ark., 2004). Zeytinyağı üretim işletmelerinde proses sonucu zeytinyağı, katı yan ürün (pirina) ve sıvı yan ürün (karasu) olmak üzere üç faz oluşmaktadır. Ülkemizde zeytin tarımına bağlı olarak yılda ortalama 200-250 bin ton/yıl pirina artığı olduğu bilinmektedir (Tekin ve Dalgıç, 2000). 100 kg zeytinden ortalama 15-22 kg zeytinyağı ve 35-45 kg pirina elde edilirken; 100 kg pirinadan ortalama 6-7,5 kg pirina yağı ve 60-70 kg kuru pirina elde edilmektedir (Göğüş ve Maskan, 2006).

Ülkemizdeki zeytin tarımı ve zeytinyağı işletmeleri dikkate alındığında, yağ fabrikalarından çıkan pirina artığının oldukça önemli miktarlarda olduğu görülmektedir. Pirinanın en yaygın kullanım alanı yakıt amaçlı kullanımdır. Pirinanın direkt yakılmak suretiyle kullanılması ekonomik yönden randımanlı olmamakla birlikte çevre kirliliği açısından da olumsuzluklar getirmektedir. Zeytinyağı tesislerinin yan ürünü olan pirinanın katma değeri yüksek bir maddeye dönüştürülerek tekrar kullanılmasının sağlanması hem ekonomik yönden hem de çevre kirliliği yönünden birçok fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmada pirinanın enzim tutuklanmasında destek maddesi olarak kullanılabilir olup olmadığı araştırılmıştır. *Thermomyces lanuginosus* enzimi pirina destek maddesi üzerine kovalent bağlama

metodu kullanılarak başarılı bir şekilde tutturulmuştur. Enzim tutuklanmasından önce ve sonra pirina destek maddesinin yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Enzim tutuklanmasında önemli parametrelerden enzim konsantrasyonu, çözelti pH'sı ve tampon çözeltisinin derişim değerlerinin lipaz tutuklanması ve aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Böylece zeytinyağı işletmelerinden çıkan pirinanın katma değeri yüksek bir maddeye dönüştürülerek tekrar kullanılmasının sağlanması, yılın belli dönemlerinde atıl kalan zeytinyağı işletmelerine ekonomik yönden katkı sağlanması ve zeytin artıklarının bölgesel ekosisteme olan olumsuz etkilerinin önlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Ticari olarak Lipozyme TL 100 L (aktivite: 16.05 U/mL) olarak bilinen lipaz enzimi Novo Nordisk (Denmark)'tan temin edilmiştir. Pirina yerel bir yağ fabrikasından alınmıştır. Glutaraldehit, potasyum hidrojen fosfat, dipotasyum hidrojen fosfat, Coomassie brilliant blue G 250, sodyumtetraborat ve HCl Merck'ten temin edilmiştir. Triton X-100, gum arabic, p-nitrofenil palmitat, p-nitrofenol ve bovine serum albumin Sigma'dan satın alınmıştır. Diğer tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

Lipaz Enziminin Pirina'ya Tutturulması

Thermomyces lanuginosus lipaz enzimi pirina tozları üzerine poliglutaraldehit beraberinde kovalent bağlama ile tutturulmuştur. Pirina destek maddesi uygun boyutlara getirilerek behere aktarılmış ve taze hazırlanmış %5'lik poliglutaraldehit çözeltisi ile 24 saat muamele edilerek poliglutaraldehitin pirina yüzeyine tutunması sağlanmıştır. Pirina'nın aktive edilmesinden sonra fosfat tamponunda (45 mL, 20 mM, pH 6.0) hazırlanan 5 mL enzim çözeltisi pirina ile 25 °C'de 24 saat süreyle çalkalanmıştır.

Enzim Tutuklama İşleminde Etkili Parametrelerin İncelenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan lipaz çözeltilerinin (%2,5–%20 v/v), farklı pH (5,0, 6,0, 7,0,

8,0 ve 9,0) değerlerinin ve farklı tampon konsantrasyonlarının (10 mM ile 100 mM) lipaz tutuklanması ve aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Enzim Miktarının Belirlenmesi

Tutuklanan enzim miktarı Bradford metodu ile belirlenmiştir (Bradford, 1976). Bu metotta Coomassie Brilliant Blue boyası kullanılmakta ve kullanılan bu boya ortamdaki proteinlerle kompleks oluşturarak ortamdaki proteinin yoğunluğuna göre açık veya koyu mavi renk vermektedir. Protein tayini için öncelikle 100 mg Coomassie Brilliant Blue (CBB) boyası, 50 mL metanol içerisinde çözülerek üzerine 100 mL %85'lik fosforik asit (H_3PO_4) ilave edilmiş ve saf su ile 200 mL'ye seyreltilerek Bradford boyası hazırlanmıştır. Çözelti kullanılmaya kadar koyu renkli bir şişe içerisinde buzdolabında (+4°C) saklanmıştır. Protein analiz sırasında belirli oranlarda Bradford boyası, saf su ve 4-aminoantipirin içeren analiz reagentinden 5 mL alınmış 100 µL örnek ile karıştırılarak 5 dk. bekletilmiş ve 595 nm'de UV absorbansı okunmuştur. Farklı derişimlerde Bovin Serum Albumin (BSA) standart protein çözeltileri ile hazırlanan Bradford kalibrasyon grafiği kullanılarak örneklerdeki protein miktarı hesaplanmıştır.

Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim aktivitesi spektrofotometrik metotla belirlenmiştir (Winkler ve Stuckmann, 1979). Metot enzim moleküllerinin birim zamanda pNPP'ı (para-nitrofenil palmitat) pNP'e (para-nitrofenol) dönüştürme miktarının ölçülmesine dayanmaktadır. 1 birim enzim; reaksiyon koşullarında, pNPP'dan (para-nitrofenil palmitat) bir dakikada, 1 mmol pNP (para-nitrofenol) oluşturan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla öncelikle standart pNP (para-nitrofenol) çözeltileri hazırlanarak UV spektrofotometresinde 410 nm'de absorbansları ölçülmüş ve kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Daha sonra 0,5 g örnek tartılarak 9 hacim 25 mM fosfat pH 6 tamponu ile 1 hacim 10 mM pNPP, % 0,8 triton X100 ve % 0,2 gum arabic'den oluşan 15 mL'lik çözelti karışımına ilave edilecek ve manyetik balıkla 5 dk. 125

rpm hızla karıştırılmıştır. Sonra örnek beyaz bant süzgeç kağıdı ile süzölmüş ve UV spektrofotometresiyle 410 nm'de absorbansı ölçülerek lipaz aktivitesi ve spesifik aktivite hesaplanmıştır.

Destek Maddesinin Yüzey Analizi

Pirina'nın yüzeyi enzim tutunmasında önce ve sonra SEM (Jeol JSM 500LM Taramalı Elektron Mikroskopu) cihazı ile görüntülenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Enzim Tutuklama İşleminde Etkili Parametrelerin İncelenmesi

Enzim konsantrasyonunun tutuklama üzerinde etkisini gösteren sonuçlar Tablo 1.'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde pirina üzerine tutunan en yüksek enzim miktarı %5 enzim konsantrasyonunda 45 mL, 20 mM, pH 6,0'da elde edilmiştir. Lipaz konsantrasyonu arttıkça enzim-enzim etkileşimleri nedeniyle tutuklanan enzim miktarında düşme gözlenmiştir.

Tablo 1 Enzim konsantrasyonunun tutuklamaya etkisi

Lipaz konsantrasyonları (%, v/v)	Tutuklanmış enzim miktarı (mg/g)
2.5	9,12
5	16,90
10	7,14
15	5,05
20	4,48

Enzim tutuklama koşulları: Farklı derişimlerdeki lipaz çözeltileri pirina (1 g) ile fosfat tamponu (45 mL, 20 mM, pH 6.0) içinde çalkalandı (125 rpm hızla 25 °C'de 24 saat).

Tablo 2.'de pH değerinin enzim tutuklamaya etkisi görölmektedir. Pirina üzerine tutunan en yüksek enzim miktarı (7,71 mg/g-pirina) pH 6 değerinde 45 mL, 20 mM fosfat tamponunda elde edilmiştir. Yüksek pH değerlerinde enzimin denature olduğu görölmektedir. Tampon konsantrasyonunun enzim tutuklama üzerinde etkisini gösteren sonuçlar ise

Tablo 3'te gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde pirina üzerine tutunan en yüksek enzim miktarı 20 mM tampon konsantrasyonunda (45 mL, pH 6.0) elde edilmiştir.

Tablo 2. pH'nın enzim tutuklamaya etkisi

pH	Tutuklanmış enzim miktarı (mg/g)
5	4,68
6	7,71
7	7,57
8	5,05
9	4,21

Enzim tutuklama koşulları: %5'lik lipaz çözeltisi pirina (1 g) ile farklı pH değerlerinde (5-9) farklı tampon çözeltileri (45 mL, 20 mM) içinde çalkalandı (125 rpm hızla 25°C'de 24 saat). Enzim tutuklama işleminde pH: 5-8 değerleri arasında fosfat tampon çözeltileri, pH:9 değerinde ise sodyumtetraborat-HCl tampon çözeltisi kullanılmıştır.

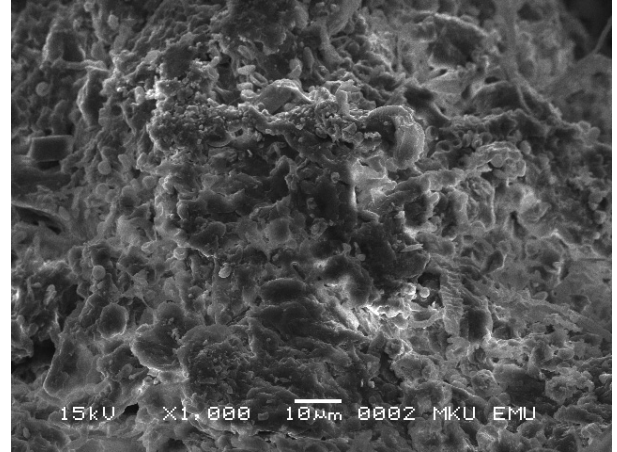
Tablo 3. Tampon konsantrasyonunun immobilizasyona etkisi

Tampon konsantrasyonu (mM)	İmmobilize enzim miktarı (mg/g)
10	14,53
20	16,90
50	7,57
80	5,52
100	4,96

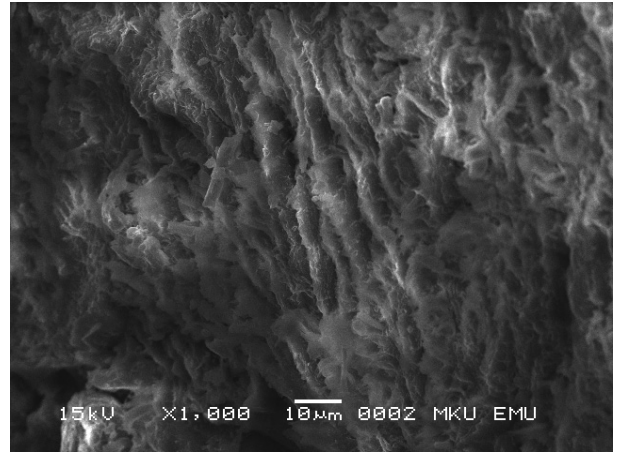
Enzim tutuklama koşulları: %5'lik lipaz çözeltisi pirina (1 g) ile fosfat tamponunda (45 mL, pH 6) farklı tampon konsantrasyonları (10-100 mM) içinde çalkalandı (125 rpm hızla 25°C'de 24 saat).

Destek Maddesinin Yüzeysel Analizi

Şekil 1.'de verilen SEM resimleri incelendiğinde lipaz tutuklama öncesinde pirina yüzeyinde amorf yapı ve farklı geometrik şekiller gözlenirken (Şekil 1a) tutuklama sonrasında daha pürüzsüz ve düzenli yüzey yapısı gözlenmiştir (Şekil 1b). Pirinanın yüzey morfolojisindeki bu değişimler destek üzerine enzimin tutunduğunu göstermektedir.



(a)

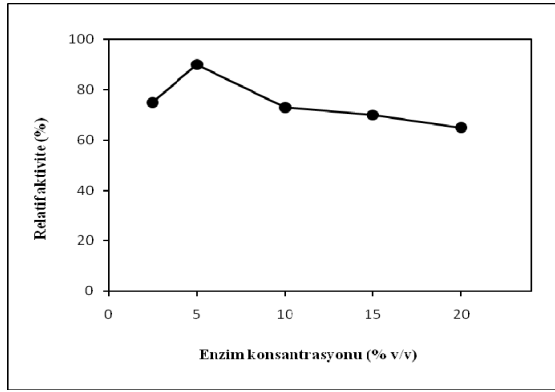


(b)

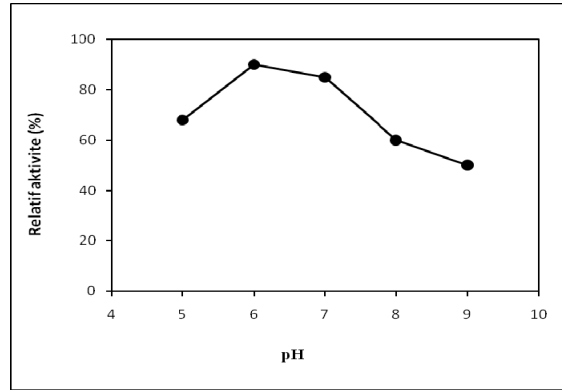
Şekil 1. Pirina'nın SEM resimleri (a) lipaz tutuklanmasından önce (b) lipaz tutuklanmasından sonra

Pirinaya Tutturulan Lipaz Enziminin Karakterizasyonu

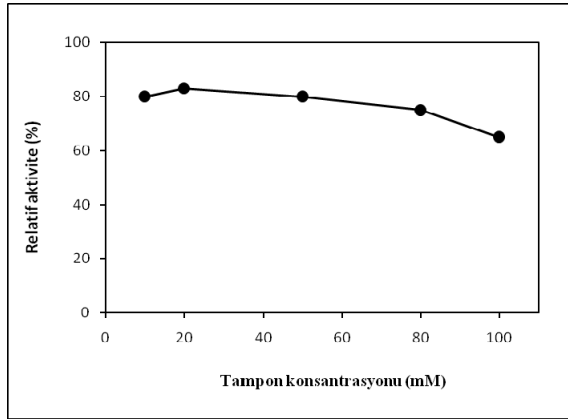
Pirinaya tutturulan lipaz enziminin karakterize edilmesi amacıyla farklı enzim konsantrasyonlarının (%2.5 ile %20 v/v), farklı pH değerlerinin (4 ile 9) ve farklı tampon konsantrasyonlarının enzim aktivitesine etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar sırasıyla Şekil 2, 3 ve 4'te gösterilmiştir. Şekiller incelendiğinde pirinaya tutturulan enzim aktivitesinin en yüksek olduğu optimum değerler %5 enzim konsantrasyonu, pH 6 ve 20 mM tampon konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.



Şekil 2. Enzim konsantrasyonunun tutuklanmış lipaz aktivitesine etkisi



Şekil 3. pH'nın tutuklanmış lipaz aktivitesine etkisi



Şekil 4. Tampon derişiminin tutuklanmış lipaz aktivitesine etkisi

Sonuç

Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda önemli tarım ürünlerimizden zeytin meyvesinin yan ürünü olan pirinanın enzim tutuklanmasında doğal destek maddesi olarak kullanılabilir potansiyele sahip

Kaynaklar

- Çetin, B., Yazgan, S., Tipi, T., 2004. Economics of Drip Irrigation of Olives in Turkey. *Agricultural Water Management*. 66:145–151.
- Tekin, A.R., Dalgıç, A.C., 2000. Biogas Production from Olive Pomace Resources. *Conservation and Recycling*. 30:301–313.
- Hasan, F., Shah, A.A., Hameed, A., 2006. Industrial Applications of Microbial Lipases. *Enzyme and Microbial Technology*. 39:235–251.
- Guang, Y., Jianping, W., Gang, X., Lirong, Y., 2010. Comparative Study of Properties of Immobilized Lipase onto Glutaraldehyde-Activated Amino-Silica Gel Via Different Methods. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 78:351–356.
- Göğüş, F., Maskan, M., 2006. Air Drying Characteristics of Solid Waste (pomace) of Olive Oil Processing. *Journal of Food Engineering* 72(4):378-382.

olduğu belirlenmiştir. *Thermomyces lanuginosus* enzimi pirina destek maddesi üzerine kovalent bağlama metodu kullanılarak başarılı bir şekilde tutturulmuştur. Enzim tutuklanmasından önce ve sonra pirina destek maddesinin yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Lipaz enziminin pirinaya tutturulmasında önemli parametreler için en uygun deneysel koşullar %5 enzim konsantrasyonu, pH 6 ve 20 mM fosfat tampon konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Böylece zeytinyağı işletmelerinden çıkan pirinanın katma değeri yüksek doğal destek maddesine dönüşmesi sağlanmış ve zeytin katı artıklarının bölgesel ekosisteme olan olumsuz etkilerinin giderilmesi amaçlanmıştır.

Teşekkür

Yazar Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına 1001 M 0114 nolu proje ile sağladığı finans desteği için teşekkür eder.

- Yücel, Y., 2008. Bazı Enzimleri Kullanarak Biyodizel Üretimi ve Biyodizel Özelliklerinin Analitik Metotlarla Araştırılması. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa. 184.
- Öztürk, B., 2001. Immobilization of Lipase from *Candida rugosa* on Hydrophobic and Hydrophilic Supports. Master of Science, İzmir Institute of Technology, İzmir. 102.
- Chang, S.F., Chang, S.W., Yen, Y.H., Shieh, C.J., 2007. Optimum Immobilization of *Candida rugosa* Lipase on Celite by RSM. Appl Clay Sci. 37:67–73.
- Pahujani, S., Kanwar, S.S., Chauhan, G., Gupta, R., 2008. Glutaraldehyde Activation of Polymer Nylon-6 for Lipase Immobilization: Enzyme Characteristic and Stability. Bioresour Technol. 99:2566–2570.
- Monier, M., El-Sokkary, A.M.A., Sarhan, A.A., 2010. Immobilization of *Candida rugosa* Lipase on Modified Natural Wool Fibers. Reactive & Functional Polymers. 70:122–128.
- Rodrigues, D.S., Mendes, A.A., Adriano, W.S., Goncalves, L.R.B., Giordano, R.L.C., 2008. Multipoint Covalent Immobilization of Microbial Lipase on Chitosan and Agarose Activated by Different Methods. J. Mol. Catal. B: Enzym. 51, 100–109.
- Yagiz, F., Kazan, D., Akin, A.N., 2007. Biodiesel Production from Waste Oils by Using Lipase Immobilized on Hydrotalcite and Zeolites. Chem. Eng. J. 134:262–267.
- Betancor, L., Gallego, F.L., Hidalgo, A., Morales, N., Mateo, C., Lafuente, R.F., Guisan, J.M., 2006. Different mechanisms of Protein Immobilization on Glutaraldehyde Activated Supports: Effect of Support Activation and Immobilization Conditions. Enzyme and Microbial Technology. 39:877-882.
- Yang, G., Wu, J., Xu, G., Yang, L., 2009. Enhancement of the Activity and Enantioselectivity of Lipase in Organic Systems by Immobilization onto Low-Cost Support. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 57:96–103.
- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem. 72:242-254.
- Winkler, U.K., Stuckmann, M., 1979. Glycogen, Hyaluronate, and Some Other Polysaccharides Greatly Enhance the Formation of Exolipase by *Serratia marcescens*. J. Bacteriol. 38:663-679.
- Yücel, Y., 2010. Biodiesel Production from Pomace Oil by Using Lipase Immobilized onto Olive Pomace. Bioresource Technology, Accepted for Publication, DOI: 10.1016/j.BiorTech.2010.12.001

İLETİŞİM

Yasin YÜCEL
Mustafa Kemal Üniversitesi,
Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü,
31040 Hatay
Tel.: +90 0326 245 58 36 /1133
Fax: +90 0326 245 58 67
E-posta: yyucel@mku.edu.tr

Konvansiyonel ve Organik Olarak Yetiştirilen Ayvalık Zeytin Çeşidinin Bazı Meyve Özellikleri, Yağ Asitleri ve Tokoferol Seviyelerinin Belirlenmesi

Nilüfer KALECİ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Geliş tarihi: 28.10.2010

Kabul tarihi: 28.12.2010

Özet

Bu çalışma konvansiyonel ve organik olarak yetiştirilen Ayvalık zeytin çeşidinin bazı meyve ve yağ özelliklerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışma, bölgenin önemli yağlık çeşidi olan Ayvalık zeytin çeşidi ağaçları üzerinde yapılmış ve ağaçlar konvansiyonel ile organik olmak üzere iki farklı koşulda yetiştirilmiştir. Yetiştirme koşulları arasındaki farklılıkların saptanmasında ağaçların verimi (kg/ağaç) ile meyve özelliklerinden 100 dane ağırlığı (g), 1 kg'daki meyve sayısı (adet), meyve eni ve boyu (mm), meyvedeki yağ miktarı (%) ile zeytinyağındaki yağ asitleri (%m/m metil esterleri) ve tokoferol (mg/kg) içerikleri incelenmiştir. Sonuç olarak, organik tarım tekniklerine göre yetiştirilen zeytin ağaçlarında, meyve verimi konvansiyonel tarım tekniklerine göre yetiştirilenlerden az olmuş, ancak zeytin meyvesinin ve yağının kalitesinde farklılık olmadığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, Organik Yetiştiricilik, Meyve Özellikleri, Yağ Asitleri Kompozisyonu, Tokoferoller.

Determination of Some Fruit Characteristics, Fatty Acid and Tocopherol Content of Ayvalık Olive Cultivar Grown under Conventional and Organic Farming Conditions

Abstract

This research was realized in order to determine some characteristics of olive fruit and olive oil in the conventional and organic farming conditions. Studies were conducted on Ayvalık olive cultivar which is an important cultivar used for olive oil in the region. The trees were grown in two different conditions as organic and conventional farming systems. The yield of olive trees were obtained to determine the differences between organic and conventional olive farming and weight of 100 fruits (g), number of fruit per 1kg, fruit length and width (mm), oil content (%) and fatty acid, composition (%m/m methyl esters) and tocopherols content (mg/kg) were determined.

Finally, yield of trees in organic farming conditions was lower than conventional farming conditions. On the other hand, there were not differences between fruit characteristics and olive oil quality of trees in two growing system.

Key Words: Olive, organic farming, pomological characteristics, fatty acid composition, tocopherols

Giriş

Türkiye'nin önemli bir zeytin çeşidi olan Ayvalık yağlık zeytini Çanakkale ili ve çevresinde yoğun olarak yetiştirilmekte olup, yöre üreticisinin geçim kaynaklarından birisini oluşturmaktadır. Bu çeşidin meyvesi iklimsel faktörlerin de etkisi ile dünyanın hiçbir yerinde görülmeyen kalitede zeytinyağı meydana getirmektedir. Yörede zeytincilik konvansiyonel tarım esaslarına dayalı olarak yapılmakta ancak gerekli kültürel işlemler her zaman tam ve zamanında yerine getirilmediği için

istenilen düzeyde verim ve kalite sağlanamamaktadır. Ayrıca; üreticiler tarafından gübreleme ve ilaçlama gibi bazı bakım işlemlerinin bilinçsiz olarak uygulanması da çevre ve insan sağlığı için olumsuz etkilere neden olacak birikimlere yol açmaktadır. Bu sorunların giderilmesine yönelik olarak Dünya'nın önemli zeytin ve zeytinyağı üreten ülkelerinde organik tarım çalışmaları adı altında üretimin her alanında yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Pala ve Zümreoğlu, 1999, El-Hashab ve ark. 2005, Parra-Lopez ve Calatrava-Requena,

2006). Çevresel, ekonomik ve tarımsal açıdan değerlendirildiğinde organik tarımın hemen her durumda konvansiyonel tarımdan daha uygun olduğu görülmüştür. Son yıllarda zeytin üretiminde Dünya'nın önemli bir ülkesi olan İtalya'da organik zeytin yetiştiriciliği üzerine talebin artmasının nedeni, mevcut çeşitlerin organik işleme uygun olmasının yanı sıra ekstra saf zeytinyağının insanların sağlığındaki koruyucu etkilerinin anlaşılması ve bu ürünlerin pazarda iyi fiyat bulmasıdır (Fabbri ve Ganino, 2002).

Zeytin ağaçlarında verim, meyve ve yağ kalitesi üzerine organik faktörlerin yanı sıra çeşitli kültürel uygulamaların da önemli derecede etkisi olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Çolakoğlu ve Canözer, 1985, Canözer, 1991, Kaynaş ve ark. 1992, Oktar ve ark. 1994). Zeytinyağının kalite kriterlerinin, danenin üretim koşullarına bağlı olarak gösterebileceği değişikliklerinin dikkatle saptanması, kaliteli zeytinyağı elde edilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Oktar ve Çolakoğlu, 1986). Uluslararası Zeytinyağı Konseyince 19 Şubat 1987 tarihinde 'zeytinyağı ve pirina yağlarına uygulanan uluslararası ticari standart' adı altında naturel zeytinyağının tanımı yapılmış ve bu yağlarda saflık ve kalite özelliklerine ait özellikler ile değişim genişlikleri verilmiştir (Anonim, 1991. Türk Gıda Kodeksinde "Yemeklik Zeytinyağı Ve Yemeklik Pirina Yağı" hakkındaki tebliğde kalite ve saflık kriterleri de verilmiştir (Ataman, 2000, Ersoy, 2000). Yağların özelliklerine büyük ölçüde etki yapan asit kökleri ile bunların zincir uzunluğu, ihtiva ettiği çift bağ sayısı ve zincir üzerindeki yeridir (Çolakoğlu ve Canözer 1985). Zeytinyağının çeşitlere göre değişen yağ asitleri kompozisyonu, onun beslenme değeri ve kimyasal nitelikleri bakımından önemli olduğu için yerli ve yabancı birçok çeşitler bu yönüyle incelenmiştir (Gümüşkesen ve ark. 2003, Dıraman ve Hışıl, 2005).

Naturel zeytinyağının kalitesini belirlemeye yardım eden unsurlardan biri de tokoferol içeriğidir (Dıraman, 2000). Zeytinyağlarındaki tokoferollerin % 90'ı biyolojik açıdan en aktif formdaki alfa tokoferol (Vit E9) olup, naturel zeytinyağında 151-178 mg/kg miktarında tokoferol olduğu belirtilmektedir. Türkiye'de naturel özellikli

zeytinyağında alfa tokoferolün 14,6 mg/kg ile 149,77 mg/kg arasında olduğu saptanmıştır (Ünal, 1988). Ayvalık yağlık çeşidinde yapılan bir çalışmada ise alfa tokoferol miktarı 99,50 (mg/kg) olarak saptanmıştır (Şeker ve ark. 2007).

Materyal ve Metot

Bu çalışma, 2007-2009 yıllarında Çanakkale ili İntepe beldesi'nde üreticilere ait deniz seviyesindeki iki ayrı mevkide bulunan zeytin bahçelerinde yürütülmüştür. Çalışmanın yapıldığı yörede organik yetiştiricilik için sertifikalı olan zeytinlik alanı bulunmamaktadır. Çalışmada birisi konvansiyonel, diğeri organik tarım olmak üzere iki ayrı yetiştirme sistemi uygulanan bahçelerdeki ağaçların tamamı 12 yaşlı Ayvalık çeşidi zeytinlerinden oluşmuştur. Konvansiyonel yetiştiricilik için seçilen bahçe, daha önceki uygulamalarda da teknik talimat ve öneriler doğrultusunda bakımı yapılmış, sağlıklı ağaçlardan meydana gelmiştir. Organik olarak yetiştiricilik için seçilen bahçedeki ağaçlara ise daha önce hiç bir şekilde çiftlik gübresi dışında kimyasal gübreleme ve ilaçlama gibi organik tarım talimatlarına aykırı işlem yapılmamış ağaçlardan oluşmuştur. İki ayrı mevkide kurulan denemede, her parsel 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 4 ağaç olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenleme yapılmıştır. Parseli oluşturan ağaçların etrafında birer sıra ağaç kenar tesiri bitki olarak bırakılmıştır. Konvansiyonel olarak yetiştiricilik yapılacak ağaçlarda gübreleme yaprak ve toprak örnekleri sonuçlara göre, mücadele işlemleri zeytin entegre mücadele programında verilen talimatlara göre yapılmıştır (Pala ve Zümreoğlu, 1999). Organik olarak yetiştirilen zeytin ağaçlarında ise organik yetiştirme talimatı dikkate alınarak besleme ve mücadele programları uygulanmıştır. Ağaçlarda Kasım ayından itibaren zeytin hasadına başlanmış ve zeytinlerin hasat, taşıma ve sıkma işleminde Organik Tarım Esasları ve Uygulamasına İlişkin Yönetmelikler esas alınmıştır. Meyve örnekleri elle hasat edilmiş ve her bir ağaçtan optimum hasat zamanı dikkate alınarak 100 meyve örneği alınmıştır. Alınan zeytin örnekleri soğuk zincir dikkate alınarak hızla Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü laboratuvarına getirilmiştir. Zeytinler ezilmiş ve soğuk santrifüjde yağ örnekleri elde edilmiştir.

Araştırmada her iki mevkide bulunan uygulama bahçesindeki ağaçlardaki meyve özelliklerini belirlemek üzere 1 kg'daki meyve sayısı (adet/kg), 100 tane ağırlığı (g), meyve en ve boy (mm) ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca zeytinyağında % Yağ (TS 973 EN ISO 659 / Yağlı Tohumlar- Yağ Muhtevasının Tayini), Serbest yağ asitliği (% oleik asit cinsinden) (TS 1605 EN ISO 660 /Bitkisel ve Hayvansal yağlar-Asit Sayısı ve Asitlik Tayini), Sabunlaşma sayısı (mg KOH/yağ) (TS 4962 EN ISO 3657 / Hayvansal ve Bitkisel Katı ve sıvı Yağlar-Sabunlaşma Sayısı), İyot sayısı (%) (TS 4961 ISO 3961), Yoğunluk (200C/200C) (TS 894 / Yemeklik Bitkisel Yağlar-Muayene Metotları), Kırılma indisi (nD 200C) (TS 894 / Yemeklik Bitkisel Yağlar - Muayene Metotları) tayinleri yapılmıştır. Bünyedeki yağ asitleri oranı zeytinyağlarının metil esterleri hazırlanarak gaz-kromatografi cihazında, bünyedeki tokoferol miktarı (mg/ kg) yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) cihazında tayin edilmiştir. Araştırmada elde edilen verilerin varyans analizleri Minitab İstatistik Programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar ise LSD testi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Konvansiyonel ve organik tarım yöntemlerine göre zeytin bahçelerindeki ağaçlardan 2005 ve 2006 yılında alınan meyve verim ve özelliklerine ait bilgiler çizelge 1 de verilmiştir. 2005 yılında organik tarım yöntemlerine göre yetiştirilen zeytin bahçelerinde ağaçların verimleri konvansiyonel tarımla yetiştirilenlere göre daha az olmuştur. Ağaçlardan alınan meyve örneklerindeki 1kg daki meyve sayısı ise, aynı yıl organik olarak yetiştirilen (300,9 adet) zeytinlerin, konvansiyonel olarak yetiştirilenlerden (388,6 adet) daha az olduğu görülmektedir. Benzer durum meyvelerin 100 dane ağırlığında da görülmektedir. Diğer yandan zeytin danelerindeki büyüklükleri ifade eden en ve boy ile ilgili değerler incelendiğinde, organik tarım uygulanan bahçelerdeki meyvelerin daha yüksek değerler aldığı görülmektedir. Çeşitli nedenlerden ötürü 1kg daki dane sayının fazla olduğu yıllarda meyve gelişmesinin daha az olduğu bunun da meyve kalitesini olumsuz yönde etkilediği, yapılan çalışmalarda da saptanmıştır (Kaynaş ve ark. 1992). 2006 yılında da organik tarımdaki ağaçların verim

değerleri (18.08kg) diğer sisteme göre istatistikî önemli olmasa da rakamsal olarak daha az olmuştur. Buna karşın zeytin danesinin 1kg daki dane sayısı organik tarımda daha fazla, 100 dane ağırlığı ise diğer uygulamalara göre daha az olmuştur. Bu değerlere bağlı olarak meyvenin iriliği de organik tarım uygulamasında daha az olmuştur. Her iki yılda da organik tarım uygulanan bahçede verimin konvansiyonel sisteme göre daha az olduğu görülmekle birlikte genel olarak meyve irilikleri arasında önemli bir farklılık görülmektedir.

Konvansiyonel ve organik tarım tekniği ile yetiştirilen zeytin bahçelerinden alınan zeytin örneklerindeki 2005 yılında alınan meyve örneklerinde zeytinyağına ait bazı özellikler çizelge 2 de verilmiştir. Çizelgeden de izlenebileceği gibi organik olarak yetiştirilen bahçelerden alınan meyvelerin yağ oranı (% 31,46) konvansiyonel olarak yetiştirilenlerden (% 33,33) daha az olmuştur. Ancak buradaki her iki uygulamada ki değerlerin de Canözer 'in (1991) Ayvalık çeşidinin yağ oranı için verdiği değerden (%24,72) daha yüksek olduğu görülmektedir. Zeytinyağının kalite kriteri olarak kabul edilen serbest yağ asitleri her iki uygulamada da Ersoy (2000)'un belirttiği gibi natürel sızma zeytinyağlarında kabul edilen serbest asitlik derecesinin (oleik asit cinsinden en çok %1) daha altında olmuştur. Benzer durum her iki uygulamadaki yağların sabunlaşma sayısı değerleri içinde geçerli olup, bulunan değerler zeytinyağlarının Uluslararası saflık kriterleri (184–196 mg KOH/g yağ) olarak kabul edilen değerler arasında olduğu görülmektedir (Anonim, 1991). İyot sayısı yağlarda bulunan doymamış yağ asitleri için bir ölçü olarak görülmektedir. Burada elde edilen değerler organik (% 83,73) ve konvansiyonel tarım uygulamalarındaki (% 84,16) olarak saptanmıştır ki, bu sonuçlar Çolakoğlu ve Canözer (1985)'in bulguları (% 80,71-% 88,65) ile benzerlik göstermektedir. Bu değerler gıda mevzuatında belirlenen değerlerin (%78–88) arasında bulunmaktadır (Ataman, 2000).

Diğer yandan her iki uygulamalarda ki yağların yoğunluk ve kırılma indisi değerleri arasında bir farklılık görülmemiştir. Bu değerler de Gıda mevzuatındaki değere yakın olmuştur (Ataman, 2000).

Zeytinyağlarının saflık kriterleri olarak kabul edilen yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde her iki bahçedeki zeytinlerin yağ örneklerinin bünyele-

indeki yağ asitleri içerikleri Türk Gıda Kodeksinde naturel zeytinyağı için belirlenen yağ asidi değerleri ile uyumlu olduğu görülmektedir (Çizelge 3).

Çizelge 1. Konvansiyonel ve organik tarım yöntemlerine göre yetiştirilen ağaçların verim ve meyve özellikleri

Uygulamalar	Ağaç verimi (kg/ağaç)		1kg dane sayısı (adet /kg)		100 dane ağ. (adet)		Meyve eni (mm)		Meyve boyu (mm)	
	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006
Konvansiyonel	27,5a	22,83	388,6a	264,1	327,4	415,3a	15,6b	19,5a	19,4b	23,6a
Organik	15,1b	18,08	300,9b	399,3	337,3	331,4b	17,3a	17,1b	20,7a	20,0b
LSD(0,01)	7,486	Ö.D	61,69	Ö.D	Ö.D	52,63	1,201	0,3518	-	1,668
LSD(0,05)	-		-			-	-	-	0,8405	-

Çizelge 2. Konvansiyonel ve organik tarım yöntemlerine göre yetiştirilen ağaçların meyve yağ özellikleri (2005)

Uygulanan tarım	Yağ (%)	Serbest yağ asitliği (%)	Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g)	İyot sayısı (%)	Yoğunluk (20°C/20°C su)	Kırılma indisi (nD 20°C)
Konvansiyonel	33,33	0,68b	192,8	84,16	0,971	1,469
Organik	31,46	0,89a	193,4	83,73	0,973	1,469
LSD(0,01)	Ö.D	0,1791	Ö.D	Ö.D	-	-

Çizelge 3. Konvansiyonel ve organik tarım yöntemlerine göre yetiştirilen zeytin ağaçlarının zeytinyağı bünyesindeki organik yağ asitleri oranları değerleri (%).

Yağ asitleri (%)	Organik zeytinyağı	Konvansiyonel zeytinyağı	Kabul edilebilir değer *
Palmitik asit (C 16:0)	13,99	12,76	7,5 – 20,0
Palmitioleik asit (C 16:1)	0,00	0,00	0,3 – 3,5
Palmitiolenik asit (C 16:2)	0,00	0,00	
Stearik asit (C 18:0)	0,15	0,17	0,5 – 5,0
Oleik asit (C 18:1)	73,61	76,05	55,0 – 83,0
Linoleik asidi (C 18:2)	10,97	9,67	3,5 – 21,0
Linolenik asit (C 18:3)	0,42	0,39	En çok =0,9
Araşidik asit (C 20:0)	0,39	0,41	En çok =0,6
Arahidonik asit (C 20:1)	0,13	0,15	En çok =0,4
Behenik asit (C 22:0)	0,00	0,00	En çok =0,2
Erusik asit (C 22,10)	0,00	0,00	

* Türk Gıda Kodeksine göre zeytinyağının kabul edilir değerler

Oleik asit, zeytinyağlarının fiziksel özelliklerinden biri olan inceliğin üzerine önemli etkisi olan bir yağ asididir. Her iki bahçede de baskın yağ asidinin oleik asit olduğu görülmektedir. Organik tarım koşullarında yetiştirilen bahçedeki zeytinyağlarında %73,61, konvansiyonel olarak yetiştirilenlerde %76,05 olmuştur. Bu değerler gıda kodeksinin sınırları arasında yer almaktadır.

Sonuçlar Gümüşkesen ve ark.(2003),’nın Ayvalık çeşidi ağaçlarından alınan zeytin örneklerinde elde ettiği değerler (Havran yöresinde %72,57) ile benzerlik göstermektedir. Genel olarak bakıldığın-

da organik olarak yetiştirilen bahçedeki örneklerin, Oktar ve ark.’ın (1994) Çanakkale yöresi zeytinlerinde saptadıkları değere çok yakın (%73,33) olduğu da görülmektedir.

Stearik asit 18 karbonlu doymuş bir yağ asidi olup organik yetiştirilen bahçelerdeki zeytinyağı örneklerinde % 0,15, konvansiyonel olanlarda ise %0,17 olarak bulunmuştur. Her iki bahçede ki değerlerde Kodeks’te belirlenen sınırlar arasında yer almıştır. Bu değerlerin Oktar ve ark.’ın (1994) Çanakkale yöresi zeytinyağlarında saptadığı değerden (% 2,50) daha düşük olduğu görülmüştür.

Çizelge 4. Konvansiyonel ve organik tarım yöntemlerine göre yetiştirilen zeytin ağaçlarının zeytinyağı bünyesindeki tokoferol miktarları

Yetiştirme koşulları	α -tokoferol (mg/kg)	β -tokoferol (mg/kg)	γ -tokoferol (mg/kg)	Toplam tokoferoller (mg/kg)
Konvansiyonel	134,15	0,00	0,00	134,15
Organik	119,9	0,00	0,00	119,9

Çalışmadaki zeytinyağı örneklerinde önemli doymuş yağ asidi olan palmitik asit ile doymamış yağ asidi olan palmitoleik asit saptanamamıştır. Zeytinyağlarında diğer önemli bir yağ asidi de linoleik asittir. Bu asit vücutta sentezlenemediği için insan sağlığı açısından çok önemli olup ancak natürel yağlardan alınmaktadır. Çalışmada organik olarak yetiştirilen bahçeden alınan zeytinyağlarında linoleik asit %10,97, konvansiyonel olarak yetiştirilenlerde ise %9,67 değeri ile daha yüksek olmuştur. Linolenik asit oranları da gıda kodeksinde belirlenen maksimum değerden ($\leq 0,9$) daha düşük olmuştur. Ayrıca bu iki asit için elde edilen değerler Gümüşkesen ve ark. (2003), Havran yöresi ayvalık çeşidi zeytinyağlarında saptadıkları değerlerle de (Linoleik asit= %10,47, linolenik asit= %0,53) benzerlik göstermektedir. Linolenik asit seviyesi ise organik yetiştiricilikte ki bahçelerin zeytinyağlarında %0,42, konvansiyonel olanlarda %0,39 olarak saptanmıştır.

Bu sonuçlar Oktar ve ark.'ın (1994) Çanakkale yöresi zeytinyağlarında saptadığı değere (%0,82) benzerlik göstermektedir. Kodekse göre $\leq 0,9$ olmalıdır. Çoklu doymamış asitlerin varlığı, yağ asitlerinin oksidasyonu çift bağlar üzerinde meydana geldiği için önemlidir. 18 karbonlu doymuş bir asit olan stearik asit ise organik olarak yetiştirilen bahçedeki zeytinyağı örneklerinde %0,15, konvansiyonel olanlarda ise %0,17 olmuştur. Bu değerlerde Türk gıda kodeksinde kabul edilebilir değerler (%0,5–5,5) arasındadır. Bu araştırmada her iki yetiştirme koşulundaki bahçelerin zeytinyağı örneklerinde alınan bu değerler Gümüşkesen ve ark. (2003), havran yöresi zeytinyağı örneklerindeki değerden (%2,65) daha az olmuştur. Zeytinyağında araşidik asit ve arahidonik asit esteri olarak bulunmaktadır. Her iki örneklerdeki zeytinyağı değerleri de gıda kodeksini kabul edilen sınırları arasında olduğu görülmektedir. Oktar ve ark.'ın (1994) Çanakkale yöresi zeytinyağlarında

saptadığı araşidik asit değeri olan % 0,27 değeri ile de benzerlik göstermiştir.

Konvansiyonel ve organik tarım koşullarında yetiştirilen bahçelerdeki zeytinyağı örneklerinde tokoferol miktarları da saptanmıştır (Çizelge 4). Tokoferoller zeytinyağının insan beslenmesinde değerini arttıran önemli bileşikler arasında yer almaktadır. En aktif formu olan alfatokoferolun varlığı taze natürel yağların özelliğidir (Dıraman ve Hışıl 2000). Burada yapılan çalışmada organik tarım koşullarında yetiştirilen bahçedeki zeytinyağlarında alfa tokoferol miktarı (119,9 mg/kg) konvansiyonel koşullarda yetiştirilen alfa tokoferol miktarından (134,15 mg/kg) daha düşük olarak bulunmuştur. Gümüşkesen (1999), Yüksek kaliteli zeytinyağının tokoferol içeriğinin 300 mg/kg olduğunu, düşük kaliteli ve yüksek asitli zeytinyağında bunun 5mg/kg değerine kadar düşmekte olduğunu bildirmektedir. Burada her iki yetiştirme koşulunda da oldukça yüksek seviyede denilebilecek düzeyde alfa tokoferol içeriği olduğu saptanmıştır. Bulunan sonuçlar Şeker ve ark.'ın (2007), Ayvalık yağlık çeşidi için saptadığı değerlerden (99,50) daha yüksek olmuştur. Ünal'ın (1988), Türkiye'de yaptıkları çalışmada natürel özellikli zeytinyağında saptadıkları alfa tokoferolun seviyelerinin (14,6 mg/kg–149,77 mg/kg) üst düzeyine yakın olduğunu görülmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, konvansiyonel ve organik tarım koşullarında yetiştirilen zeytin ağaçlarında, meyve verimi organik tarım koşullarında yetiştirilen bahçelerde daha düşük olarak görülmüş olsa da, elde edilen zeytinin meyve özellikleri ile yağ kalitesinde hiçbir farklılığın olmadığı görülmektedir. Türkiye'nin çok önemli yağlık bir çeşidi olan Ayvalık zeytinlerindeki yağ kalitesinin organik koşullarda da çok iyi sonuç vermesi, bölgede bu tarım tekniğinin uygulanabilirliği ve sistemin yaygınlaştırılması için ümit vermektedir.

Kaynaklar

- Anonim., 1991. Zeytinyağı kalitesinin iyileştirilmesi. Koleksiyon: teknik el kitapları. 68 s. Çeviri: Uluslararası Zeytinyağı Konseyi, İzmir.
- Ataman, P., 2000. Gıda mevzuatında zeytinyağının yeri. I. Uluslararası. Altınoluk "Antandros" Zeytincilik sempozyumu. 21-23 nisan. Altınoluk, Balıkesir.
- Canözer, Ö., 1991. Standart zeytin çeşitleri kataloğu. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara.
- Çolakoğlu, A. ve Canözer, Ö., 1985. Memecik zeytin çeşidinde yapraktan ve topraktan uygulanan gübrelemenin verim ve kaliteye etkilerinin araştırılması. Sonuç raporu. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü. Bornova, İzmir, 43 s.
- Dıraman, H. ve Hışıl, Y., 2005. Bazı önemli yerli ve yabancı zeytin çeşitlerinin cis-trans yağ asitleri kompozisyonu ve squalen düzeylerinin kapiler kolon gaz kromatografisi yöntemiyle belirlenmesi üzerine bir çalışma. GAP IV. Tarım Kongresi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, I. cilt s: 538-546
- Dıraman, H., 2000. Zeytinyağı bileşenlerinin beslenmedeki fonksiyonları .I. Uluslararası altınoluk "antandros" zeytincilik sempozyum kitabı, 21-23 nisan, S:6-7.
- El-Khashab, A.; Safia, A. M.; Taleb, A.; Saeed, W. T. 2005. Aggezi and Koroneiki olive trees as affected by organic and bio-fertilizers, calcium citrate and potasseine. Arab Universities Journal of Agricultural Sciences 13(2) :419-440
- Ersoy, B., 2000. Zeytinyağı ve pirina yağlarının sınıflandırılması, kalite ve saflık kriterleri. Zeytinyağı teknolojisi kursu, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Zeytincilik araştırma enstitüsü, S: 34-36.
- Fabbri, A.; Ganino, T., 2002. Organic olive growing in Italy. Advances in Horticultural Science, 16 (3/4):204-217.
- Gümüşkesen, A.S, Yemişoğlu, F. Tibet, Ü. ve Çakır, M., 2003. Türkiye'deki bazı zeytin çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının bölgesel olarak karakterizasyonu. Türkiye I. zeytinyağı ve sofralık zeytin sempozyumu bildirileri. S:216-223. 2-3 Ekim, 2003. İzmir.
- Kaynaş, N., Sütçü, A. R., Fidan. 1992. Marmara Bölgesi Zeytin Çeşitlerinin Pomolojik Özellikleri Üzerinde Çalışmalar, Bahçe, 21(1-2): 31-38
- Oktar, A. ve Çolakoğlu, A., 1986. Agronomik faktörlerin zeytinyağının kalitesi üzerine etkileri. Seminer notu, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, Bornova, 14 s.
- Oktar, A. Çolakoğlu, A. ve Ersoy, B., 1994. Türkiye zeytinyağlarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tespiti. Sonuç projesi. Zeyt. Araş. Enst. Bornova, İzmir.
- Pala, Y. ve Zümreoğlu, A., 1999. Ege Bölgesi Zeytin Alanlarında Ekolojik tarımın uygulanabilme olanakları. Türkiye 1. Ekolojik Tarım Semp. 21-23 Haziran 1999. İzmir.
- Parra-Lopez, C.; Calatrava-Requena, J. 2006. Comparison of farming techniques actually implemented and their rationality in organic and conventional olive groves in Andalusia. Biological Agriculture & Horticulture 24 (1) : 35-59.
- Şeker, M., Gül, M. K., İpek, M., Toplu, C., ve Kaleci, N., 2007. 'Screening and comparing tocopherols in the rapeseed (Brassica napus L.) and olive (Olea europaea L.) varieties using high-performance liquid chromatography', Inter. Jour. of Food Sci. and Nutr., 1-8.
- Ünal, M. K., 1988. Tocopherols in Turkish olive oils. E.Ü.Müh. Fak. Derg. Seri, Gıda müh. Cilt: 6s: 131-136, Bornova, İzmir.

İLETİŞİM

Nilüfer Kaleci
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi
E-posta: nkaleci@comu.edu.tr

Zeytin Mikroçoğaltımı ve Konzervasyonunda Güncel Biyoteknolojik Gelişmeler

Recent Biotechnological Advances in Olive Micropropagation and Conservation

Ergun KAYA, Hülya AKDEMİR, Yelda ÖZDEN

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı, 41400, Gebze, Kocaeli

Geliş tarihi: 10.10.2010

Kabul tarihi: 03.01.2011

Özet

Günümüze kadar, zeytin çeşitleri (*Olea europaea* L.) üzerinde geleneksel vejetatif üretim yöntemlerinin kullanıldığı pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak köklenmede karşılaşılan sorunlar geleneksel yöntemler ile çoğaltılan zeytin bitkisinin üretim verimini azaltmaktadır. Bu problem geleneksel yöntemlere tamamlayıcı olarak biyoteknolojik yöntemlerin kullanılmasıyla aşılabilmektedir. Biyoteknolojik yöntemlerin, türlerin moleküler karakterizasyonunda *in vitro* koşullarda türün hızlı çoğaltımına ve türe ait germ plazmanın orta ve uzun süreli saklanmasına, gen aktarımı çalışmaları ile türe ait köklenme sorununun azaltılmasında kullanılma potansiyeli bulunmaktadır. Bu nedenle bu derlemede zeytin bitkisinin karakterizasyonu, mikroçoğaltımı ve konzervasyonu konularında yapılan güncel biyoteknolojik çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Moleküler markör, orta dereceli saklama, kriyoprezervasyon

Abstract

Up to now, several studies were carried out to propagate olive cultivars (*Olea europaea* L.) via traditional vegetative techniques. However, problems faced with rooting of cuttings lower the efficiency of production in traditional propagated olive. This problem can be overcome with using biotechnological methods as a complementary strategy to traditional propagation methods. Biotechnological techniques have potential to be used for molecular characterization and rapid propagation of the species via *in vitro* techniques, medium- and long-term conservation of plant genetic resources and reduction of rooting problems with transgenic studies. Thus, recent biotechnological advances on olive molecular characterization, micropropagation and conservation were summarized in this review.

Keywords: Cryopreservation, molecular markers, medium-term conservation

Giriş

Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin bir bölümünü ve Suriye'yi de içine alan Mezopotamya'nın yukarı kısımları ile Asya'nın güneybatısında yetiştirilen zeytin (*Olea europaea* L.), dünyada kültüre alınan en eski türlerdendir. Zeytinin kültüre alınmasının 5500 yıl önce "Oleaster" olarak bilinen yabancı Akdeniz zeytininin, Güney Avrupa ve Kuzey Afrika boyunca yayılmaya başlayan insan göçlerini takip ederek başladığı düşünülmektedir (Besnard ve ark., 2001). M.Ö. 3000 yıllarında Akdeniz'in doğu kıyılarında kültüre

alınmaya başlanan zeytin bu bölgede kültürlenmiş ilk meyve çeşitlerindedir (Zohary ve Spiegel-Roy, 1975).

Günümüzde, dünyanın pek çok ülkesinde yaygın olarak kültürlenebilmesine karşın, zeytin tipik Akdeniz bitkisi olarak bilinir ve bu bölge bugün yaklaşık 2000 zeytin çeşidi ile dünya zeytinyağı üretiminin %98'ini karşılamaktadır (Bartolini ve Petrucci, 2002). Bu nedenle zeytin özellikle Akdeniz toplumunun beslenmesinde, ekonomisinde ve kültüründe önemli bir role sahiptir (Zamora, 2001).

Zeytin ağaçları, mevsim koşullarına bağlı olmakla birlikte çoğunlukla uzun ömürlü ve herdem yeşil bitkilerdir. Akdeniz iklim koşullarında zeytin ağaçları, sıklıkla verimliliklerini ve hatta canlılıklarını etkileyen özellikle kuraklık gibi birçok abiyotik strese maruz kalsa da (Sofu ve ark., 2004), zeytin ağaçları, sıcak ve kurak, uzun yazları, rüzgarlı kısa kışları ile Akdeniz iklim koşullarına oldukça iyi adapte olmuşlardır. Zeytin bitkisi meyve miktarının indirgenmesi yoluyla yazın su stresine karşı hayatta kalmasını sağlayacak bir mekanizma geliştirmiştir (Rallo, 2009).

Zeytinin kültüre alındığı ülkelerde (başta İspanya, İtalya ve Türkiye olmak üzere) morfolojik olarak birbirine benzer (sinonim) çok sayıda zeytin çeşidi bulunması ve bu çeşitlerin belirlenmesinde karşılaşılan sorunlar, genetik kaynaklar işletmeciliği ve korunmasında birçok sorunun ortaya çıkmasına neden olmuş (Carriero ve ark., 2002), bu nedenle zeytin genetik kaynaklarının hızlı, güncel moleküler teknikler ile etkin bir biçimde karakterizasyonu çok önemlidir. Ayrıca günümüze kadar geleneksel yöntemlerle çelik ya da aşılama yoluyla çoğaltılmaya çalışılan (Fabbri ve ark., 2004) zeytinin köklenmesinin zor ya da kimi sofralık çeşitlerde olduğu gibi olanaksız olması, ticari üretim için bitki doku kültürü temelli biyoteknolojik yöntemlerin uygulanması gerekliliğini ortaya çıkarmıştır.

Bu çalışmada, zeytin çeşitlerinin moleküler karakterizasyonu için günümüze kadar uygulanan farklı yöntemlere ek olarak türün biyoteknolojik yöntemler kullanılarak çoğaltımı, orta ve uzun süreli saklanması ve transformasyonu son literatür çalışmaları da göz önünde bulundurularak derlenmiştir.

Zeytin Çeşitlerinin Moleküler Karakterizasyonu

Farklı morfolojik özellik ve coğrafik kökenlere sahip birçok alttürü içeren *Olea europaea* türleri, yağ içerikleri, meyve büyüklükleri ve çeşitli biyotik ve abiyotik stres koşullarına adaptasyon dereceleri gibi birçok tarımsal özellikleri açısından genetik çeşitlilik gösterirler (Hatzopoulou ve ark., 2002). Zeytin çeşitlerinin birbirinden ayırt edile-

bilmesi ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi, zeytin gen kaynaklarının daha iyi işletilmesi ve başarılı yetiştirme programları için önemlidir.

Zeytin genetik kaynaklarının çeşitliliği, geleneksel olarak morfolojik ve fenolojik yollarla belirlenirken, morfolojik verilere tamamlayıcı olarak izozim analizleri de zeytin çeşitlerinin tanımlanması için birçok araştırmacı tarafından (Pontikis ve ark., 1980; Trujillo ve Rallo, 1995; Roselli ve ark., 1990; Seker ve ark., 2005) çalışılmıştır. Bunu takiben, çeşitli DNA marker tekniklerinin geliştirilmesi ve uygulanması ile birçok zeytin çeşidinin kendi aralarında ya da kendi içinde genetik akrabalıklarının ve zeytin biyoçeşitliliğinin belirlenmesinde (Fabbri ve ark., 1995; Angiolillo ve ark., 1999; Belaj ve ark., 2001; Cipriani ve ark., 2002; Banilas ve ark., 2003) ilerleme sağlamıştır.

Zeytin karakterizasyonunda kullanılan ilk moleküler yöntem, restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP; Gallitelli ve ark., 1991) olup, De la Rosa ve ark. tarafından (2003) yapılan çalışmada 'Leccino' ve 'Dolce Agagia' çeşitlerinin melezlenmesiyle 95 bitkinin analizi gerçekleştirilmiştir. Yine çeşit içi ve çeşitler arası farklılıkların belirlenebilmesi için kullanılan rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) belirteçleri *Olea* genusunun taksonomik sınıflandırılmasında birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Fabbri ve ark., 1995; Mekuria ve ark., 1999; Gemas ve ark., 2000; Ganino ve Fabbri, 2005; Durgac ve ark., 2010). Tüm bitki genomlarında bulunan ve türler arasında yüksek değişkenlik gösteren tek dizi tekrarlarına (SSR) özgü tasarlanan primerlerle DNA'nın çoğaltılması yöntemine dayanan SSR markerları kodominant belirteçler olup yüksek polimorfizm göstermeleri nedeniyle zeytinin genetik karakterizasyonu (Bandelj ve ark., 2002; Belaj ve ark., 2005; Taamalli ve ark. 2006) çalışmalarında kullanılan bir başka DNA temelli yöntemlerden birisidir. Vos ve ark. (1995) tarafından geliştirilen çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) yöntemi de kültüre alınmış zeytin çeşitleri arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Angiolillo ve ark., 1999; Baldoni ve ark., 2000; Bandelj ve ark., 2004; Owen ve ark., 2005; Montemurro ve ark., 2005; Taamalli ve ark.

2006). Bu yöntemlerin bir arada kullanıldığı çalışmalardan birinde İtalyan ve İspanyol zeytin çeşitleri arasındaki genetik akrabalığın belirlenmesi için RAPD, AFLP ve SSR yöntemleri bir arada kullanılmıştır (Belaj ve ark., 2003). Moleküler karakterizasyon için kullanılan son yöntemlerden biri olan tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ilk kez Diaz Bermudez (2005) adlı araştırmacı tarafından 51 zeytin çeşidinin sınıflandırılmasında kullanılmıştır. SCAR (Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler) (Busconi ve ark., 2006) ve ISSR (Basit Ara Dizi Tekrarları) (Gemmas ve ark., 2004) gibi moleküler yöntemler ise zeytinin karakterizasyonunda kullanılan diğer moleküler belirteçlerdir.

Zeytinin moleküler karakterizasyonunda kullanılan biyokimyasal ve moleküler temelli yöntemlere ait çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan bazı çalışmalar Çizelge 1’de özetlenmiştir.

Zeytin Bitkisinin Mikroçoğaltımı ve Biyoteknolojik Uygulamalar

Günümüzde zeytin yetiştiriciliği yapan pek çok ülkede zeytin, yapraklı gövde veya çeliklerin köklendirilmesiyle ya da gövde filizlerinin, tohumdan gelişen ya da klonal gövdelere aşılama ile çoğaltılmaktadır (Fabbri ve ark., 2004). 1950’lerin ortalarında çelikle çoğaltım yöntemi özellikle İspanya gibi aşılama yönteminin kullanılmadığı ülkelerde yaygınlaşmış ve üretim materyalinin %70’inden daha fazlasının kaynağı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, bununla birlikte, sofraya zeytin olarak kullanılan çeşitlerin köklenmesi çok zor ya da tümüyle olanaksızdır. Ayrıca, *de novo* olarak oluşmuş kökler de sıklıkla işlevsel değildir. Bu nedenle çeşitlerin klonal çoğaltımı için aşılama en uygulanabilir yöntem olarak görülmektedir.

Günümüze değin, morfolojik bakımdan oldukça yüksek derecede farklılık gösteren binlerce zeytin genotipi kültüre alınmıştır. Bununla birlikte, bu genotiplerin üretiminin gelecekte devamlılığını sağlamada yapılan uygulamaları sınırlayıcı bazı problemlerin (verimliliğin düşük, üretim maliyetinin fazla olması gibi) acilen çözülmesi gereklidir

(Rugini ve Caricato, 1995). Köklenmesi çok zor olan zeytinin ürün verimliliğinin artırılması için, geleneksel yöntemlerin, kısa sürede ve kolaylıkla ticari olarak yüksek miktarlarda bitkinin çoğaltılmasına olanak tanıyan mikroçoğaltım yöntemi gibi biyoteknolojik yaklaşımlarla desteklenmesi gerekmektedir.

Günümüze kadar pek çok meyve türünün doku kültürü yöntemleri kullanılarak *in vitro* çoğaltılmasına karşılık, bazı zeytin çeşitlerinin mikroçoğaltım yöntemi ile başarılı bir şekilde çoğaltılması mümkün olmuştur (Rugini ve Fedeli, 1990). Zeytin bitkisinin mikroçoğaltımı ile ilgili ilk bilgiler 1970’lerin ortalarına rastlamaktadır ve bu da tüm zeytin çeşitlerinde uygulanabilecek bir mikroçoğaltım yönteminin kurulması için araştırmacıların kültür ortamının mineral içeriklerinin optimizasyonu üzerinde yaptıkları çalışmalardan ibarettir. Fiorino ve Leva (1986) tarafından standart MS (Murashige ve Skoog, 1962) besiyerinin modifiye edilmesiyle MSI ve Leva ve ark., (1992) tarafından belirlenen yine standart MS besiyerinin modifiye şekli MSM ve Rugini (1984) tarafından belirlenen OM besiyerleri, zeytin mikroçoğaltımı için kullanılan en yaygın besiyerleridir. OM besiyeri, İtalya’da 50’den fazla zeytin çeşidinin *in vitro* koşullarda ticari olarak üretilmesinde kullanılmakta olup, yüksek kalitede üretim ve hızlı bitki gelişimi sağlamıştır (Rugini ve ark., 2006).

Temel mineral içeriğinin yanı sıra bitki büyüme düzenleyicileri, *in vitro* kültür ortamında bir besiyerinin en önemli bileşenlerini oluşturmaktadır. Farklı zeytin çeşitlerinde yapılan çalışmalarda, besiyerine eklenen 6-benziladenin (BA), tidiazuron (TDZ) ve kinetin gibi sentetik bitki büyüme düzenleyicilerinin zeytin bitkisinde kısa gövdelerin ve fazla bazal kallusun oluşumunu uyardığı rapor edilmiştir (Rugini, 1990). Doğal bir sitokin olan zeatin ise Rugini’nin (1984) ilk çalışmasından günümüze kadar zeytin kültür besiyerlerinde yaygın olarak kullanılmıştır. Yüksek derecede çoğalma elde etmek için besiyerinde bu bitki büyüme düzenleyicisinin yüksek derişimlerde kullanılması gerektiği rapor edilmiştir. Buna karşılık, zeatinin pahalı oluşu zeytin çoğaltımının üretim

maliyetini arttırmaktadır (Rugini ve Baldoni, 2004). Zeytin mikroçoğaltımında, farklı kombinasyonlarda ve farklı derişimlerde denenen bitki büyüme düzenleyicileri ile yapılan bazı önemli çalışmalar Çizelge 2’de özetlenmiştir.

Zeytin bitkisi, *in vitro* koşullarda çoğaltılmaya çalışıldığında güçlü bir apikal dominans göstermektedir. Bunun sonucu olarak, gövde gelişimi genellikle, tepe tomurcukları yerine, uzayan gövdelerden alınan bir veya iki nodlu parçalar ile olmaktadır. Zeytin çeşidine bağlı olarak, proliferasyon besiyerindeki zeatin derişimi $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ ile 10 mg l^{-1} arasında farklılık gösterebilir. Yarı katı besiyeri sistemlerinde, farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanılmasında karşılaşılan güçlükler, verim ve maliyet açısından zeytin mikroçoğaltımı için sıvı besiyeri kullanımını ve biyoreaktör sistemleri gibi yarı veya tam otomize edilmiş yeni teknolojilerin geliştirilmesini gerektirmektedir. Geçici daldırma bioreaktör sistemi (TIS) kullanılarak, zeytin bitkisinin “Canino”, “Ascolana Tenera” ve “Gentile di Larino” çeşitlerinde *in vitro* proliferasyonun arttığı rapor edilmiştir (Lambardi ve ark., 2006). Özden ve ark. (2010) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise “Edremit” yağlık çeşidine ait olgun ağaçlardan alınan nodal tomurcuklar *in vitro* çoğaltım için farklı karbon kaynakları (sukroz, mannitol, glukoz) ve bitki büyüme düzenleyicileri (zeatin ve dikegulak) eklenerek hem yarı katı hem de geçici daldırma bioreaktör sisteminde çoğaltılmıştır. Elde edilen sonuçlar, mannitol içeren sıvı OM besiyerinde TIS sistemi ile gövdelerde apikal dominansın kırılarak yanıl gövdelerin gelişme gösterdiğini ve çoklu gövde oluşumunun gerçekleştirdiğini göstermiştir. Yine TIS sisteminde besi ortamına zeatine ek olarak, dikegulak eklenmesinin çoklu gövde oluşumu üzerine olumlu etkisi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak çalışmada, zeytin bitkisine ait nodal eksplantlardan en fazla gövde rejenerasyonu ve çoklu gövde oluşumu mannitol, zeatin ve dikegulak içeren sıvı besiyerinde TIS sistemi kullanılarak, elde edilmiştir.

Zeytin mikroçoğaltımını etkileyen önemli besiyeri bileşenlerinden biri de enerji kaynağı olan karbon-

dur. Zeytin mikroçoğaltım besiyerine sukrozla birlikte mannitolün eklenmesinin üretim maliyetine arttırmasına karşılık, proliferasyonu arttırdığı rapor edilmiştir (Leva ve ark., 1992). Benzer şekilde Garcia-Ferriz ve arkadaşları (2002) tarafından “Manzanillo” çeşidinde yapılan bir çalışmada, mannitol kullanımının sürgün uzunluğunda artış ve apikal dominansın kırılmasını sağladığı rapor edilmiştir. Mannitole ek olarak, yapılan *in vitro* çalışmalarda birkaç alt kültür sonrası besiyerine FeEDDHA’ nın eklenmesinin tomurcuk gelişimini ve bunlardan gelişen gövdelerin aynı besiyerinde proliferasyonunu iyileştirdiği rapor edilmiştir (Tsao ve Reed, 2002). Besiyerine eklenen demir (Şekil 1) çok çeşitli enzimatik metabolik işlemlerde rol oynadığından ve *de novo* meristem organizasyonunda ve/veya gövde gelişmesinde görev aldığından, besiyerindeki miktarının optimizasyonu önemlidir. Kültür şartlarını iyileştirmeye yönelik yapılan tüm bu çalışmalar sadece bazı çeşitlerle sınırlı olup henüz tüm zeytin çeşitleri üzerinde uygulanmamıştır.

Zeytin bitkisine yönelik *in vitro* köklenme çalışmalarında ise % 85’e kadar başarı elde edilmiştir (Rugini, 1984). Köklenme çalışmalarında genellikle $1-4 \text{ mg l}^{-1}$ IBA (indol-3-butirik asit) veya NAA (α -naftalen asetik asit) kullanılmıştır. Ayrıca steril siyah renkli polikarbonat granüllerle besiyerinin yüzeyini ya da siyah boya ile besiyeri kabını boyamanın da köklenme oranını arttırdığı rapor edilmiştir (Rugini ve ark., 1993; Mencucci, 2003).

Mikroçoğaltım yöntemine ek olarak, mikroaşılama yöntemi de zeytin üretiminde kullanılan biyoteknolojik yöntemlerden biridir. *In vitro* çoğaltılan anaç fideler üzerine gövdelerin mikroaşılması yoluyla gerçekleştirilen mikroçoğaltım çeşitli araştırmacılar tarafından yayınlanmıştır (Revilla ve ark., 1996; Farahani ve ark., 2006). Trancoso ve ark., (1999) tarafından yapılan çalışmada “Arbequina” çeşidine ait *in vitro* fideler üzerine aşılama “Canivano” çeşidine ait gövdelerden *in vivo*’da %67 canlılık ve verimlilik elde edilmiştir.

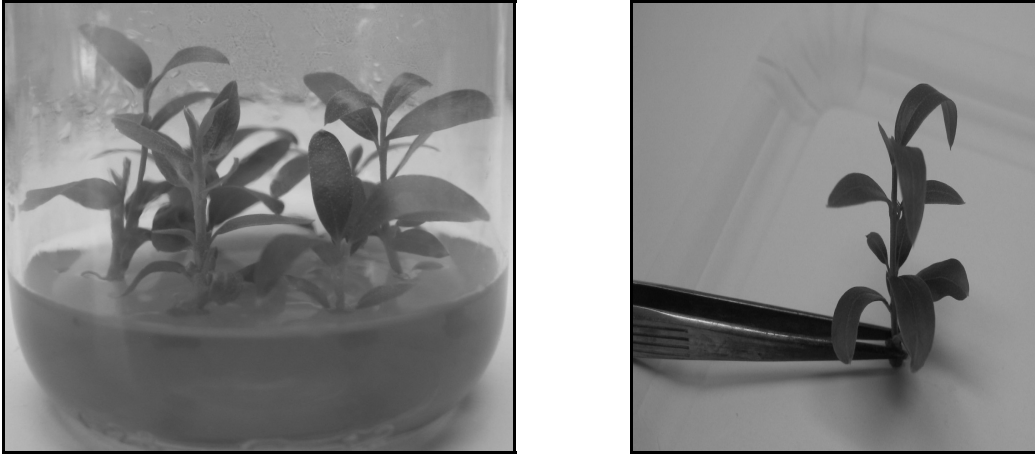
Çizelge 1. Zeytinin moleküler karakterizasyonunda kullanılan yöntemler

Yöntem	Eksplant Kaynağı	Kaynakça
İzozim	Farklı orjinlerden gelen 155 zeytin çeşidinin polen örneklerinin karşılaştırılması	Trujillo ve Rallo, 1995
İzozim	43 zeytin çeşidi (29 yerel, 5 “Gemlik”, 3 “Ayvalık”, 1 “Memecik”, 5 “Uslu” çeşidi)	Şeker ve ark., 2005
RAPD	Akdeniz Bölgesi orijinli yağlık ve sofralık 17 zeytin çeşitleri	Fabbri ve ark., 1995
RAPD	6 eski zeytin çeşidi ile 15 modern zeytin çeşitlerinin karşılaştırılması	Durgaç ve ark., 2010
SSR	5 yerel zeytin çeşidi ile 14 farklı orijinli (İtalya, İspanya, Fransa, Slovakya) zeytin çeşidi	Bandelj ve ark., 2002
SSR ve AFLP	26 Tunus orijinli zeytin çeşitleri	Taamalli ve ark. 2006
AFLP	65 farklı orijinli zeytin çeşidi (27 Türkiye, 25 Yunanistan, 1 Suriye, 2 Lübnan, 4 İtalyan, 6 İspanyol)	Owen ve ark., 2005
RAPD, AFLP ve SSR	32 İtalyan ve İspanyol orijinli zeytin çeşidi	Belaj ve ark., 2003
RAPD, AFLP, RFLP ve SSR	‘Leccino’ ve ‘Dolce Agagia’ çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilen 95 zeytin bitkisinin analizi	De la Rosa ve ark. 2003
SNP	51 zeytin çeşidi	Diaz Bermudez, 2005
SCAR	40 İtalyan ve İspanyol orijinli zeytin çeşidi	Busconi ve ark., 2006
ISSR ve RAPD	Portekiz zeytin çeşitlerinin karşılaştırılması	Gemas ve ark., 2004

Çizelge 2. Zeytinin *in vitro* çoğaltımı konusunda yapılan bazı önemli çalışmalar

Zeytin Çeşiti	Proliferasyon ortamı*	Köklenme ortamı*	Kaynakça
“Maderensis”	DKW + 2.2-8.8 µM BAP + 0.4 µM IBA DKW + 18.2 µM Zeatin OM + 2.2-8.8 µM BAP + 0.4 µM IBA OM + 18.2 µM Zeatin	½ DKW + 5.4-26.8 µM NAA ½ DKW + 4.1 µM-2.0 mM IBA	Santos ve ark., 2003
“Galega vulgar”	OM + 2.22 µM BAP + Hindistancevizi sütü 50 mg l ⁻¹ OM + 2.32 µM KIN + Hindistancevizi sütü 50 mg l ⁻¹ OM + 2.28 µM Zeatin + Hindistancevizi sütü 50 mg l ⁻¹	OM + 4.9 µM IBA	Peixe, 2007
“Frantoio”, “Canino”, “Moraiolo”, “Rosciola”, “Piantone”	OM + 4.5 µM Zeatin + 0-133,4 µM Dikegulak	Bourgin ve Nitsch (1967) besiyortamı + IBA (0.4 mg l ⁻¹), 160 mg/l Putresin	Mendoza-de Gyves ve ark, 2007
“Agladau”, “Tanche”, “Laragne”	OM+30 g l ⁻¹ sucrose+4 mg l ⁻¹ zeatin OM+20 g l ⁻¹ sucrose+4 mg l ⁻¹ zeatin WPM+15 g l ⁻¹ sucrose+0.1 mg l ⁻¹ zeatin	OM + 4 mg l ⁻¹ IBA ya da WPM + 1 mg l ⁻¹ IBA + 0.75 mg l ⁻¹ NAA	Binet ve ark., 2007
“Rowghani”	OM + 4 mg l ⁻¹ 2ip + % 3 sucrose DKW + 4 mg l ⁻¹ 2ip + % 3 sucrose	500 mg l ⁻¹ IBA içeren solüsyona daldırma	Peyvandi, 2009
“Edremit”	OM + 5-10 µM Zeatin + 66 µM Dikegulak + 50 mg l ⁻¹ FeEDDHA	Veri sunulmamıştır	Özden ve ark., 2010

*DKW: Driver-Kuniyuki-Walnut besiyortamı, (Driver ve Kuniyuki, 1984); OM: zeytin besiyortamı, (Rugini, 1984); WPM: odunsu bitkiler için besiyortamı, (Lloyd and McCown, 1980); BAP, Benzil amino purin; IBA, İndol butirik asit; KIN, kinetin; NAA, Naftalen asetik asit, FeEDDHA, demir etilen diammin- N,N'-bis (hidroksifenil asetik asit); 2ip, N6-[2-izopentil] adenin.



Şekil 1: Zeytin bitkisine ait nodal eksplantlardan gelişen gövdelerin 2 mg l⁻¹ Zeatin ve 50 mg l⁻¹ FeEDDHA içeren besiyerinde 5 hafta sonunda gösterdikleri gelişme (a) ve elde edilen gövdeler (b)

Zeytin Germplazmasının Orta Dereceli ve Uzun Süreli Saklanması

Biyçeşitliliğin korunmasına yönelik çalışmaların giderek arttığı günümüzde, zeytin germplazmasının da yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olması nedeniyle türün orta ve uzun süreli saklanması için yapılan *in vitro* çalışmalar önem kazanmıştır. Zeytin bitkisi üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda karşılan zorluklar nedeniyle koruma çalışmaları da oldukça sınırlı çerçevelerde kalmıştır. Genellikle geleneksel yöntemlerle tarla ve bahçe gibi alanlarda koruma altına alınan zeytin, günümüzde biyoteknolojik yaklaşımlardan faydalanılarak daha küçük alanlarda genellikle dış etkenlerden bağımsız olarak daha fazla bitkinin korunmasına olanak sağlamaktadır. Bu yaklaşımlardan biri germplazmanın orta dereceli saklanması olan, *in vitro* kültürlerin büyümesinin yavaşlatıldığı ve böylelikle alt kültür periyodunun uzatıldığı çalışmalardır. Diğer bir koruma yöntemi de bitki doku, organ gibi bitki materyallerinin sıvı azot içerisinde (-196 °C), uzun süre canlılığını yitirmeden saklanmasını sağlayan dondurarak saklama yöntemidir.

Zeytin bitkisinin orta ve uzun süreli saklanmasına yönelik Lambardi ve ark., (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, “Leccino” ve “Frantoio” zeytin çeşitlerini 4°C’te, karanlıkta 8 ay saklanmıştır. Yine aynı çalışmada, “Frantoio” çeşidine ait *in vitro* büyütülen bitkilerden alınan gövde ucu eksplantları, vitrifikasyon / tek aşamalı

dondurma tekniği ile kriyoprezerve edilmiş ve çözme sonrasında %15 canlılık oranı elde edilmiştir. Shibli ve ark. tarafından (2000) yapılan çalışmada ise zeytin bitkisinin somatik embriyoları enkapsülasyon-dehidratasyon ve enkapsülasyon-vitrifikasyon yöntemi kullanılarak kriyoprezerve edilmiş ve %48’e varan canlılık elde edilmiştir. Sánchez-Romero ve arkadaşları tarafından 2009 yılında zeytin embriyonik kültürleri kullanılarak yapılan kriyoprezervasyon çalışmasında, ultra hızlı dondurma, yavaş soğutma ve damlacık dondurma yöntemleri karşılaştırılmış ve en iyi rejenerasyon (%100) damlacık dondurma yöntemi ile elde edilmiştir.

Zeytin Bitkisinde Transformasyon Çalışmaları

Zeytin bitkisinin transformasyonu ile ilgili ilk çalışmada *in vitro* çoğaltılan “Dolce Agogia” gövdelerinin köklenme yeteneğini arttırmak için mikro gövdeler *A. rhizogenes* ile inoküle edilmiştir (Rugini, 1986). Daha sonra zeytin bitkisinin adventif köklenme potansiyeli *A. rhizogenes*’in rol genleri ile arttırılmaya çalışılmıştır (Rugini ve Mariotti, 1992). *A. rhizogenes* ile inoküle edilen zeytin gövdelerinden köklerde transformasyon etkinliği düşük olmasına karşın, ikincil köklerin oluşmasında görülen artış transforme olmayan komşu hücrelere T-DNA’nın kısmi integrasyonuna işaret etmektedir. Bu çalışmaya ek olarak çeşitli araştırmacılar tarafından, zigotik olgunlaşmamış embriyolara (Rugini ve Fedeli, 1990) ve yaprak

petiyollerine (Mencuccini ve ark., 1999) *A. tumefaciens* aracılığıyla rol ABC genlerinin transformasyonu çalışılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu transgenik bitkiler, İtalya’da deneysel tarım alanlarında halen değerlendirme aşamasındadır (Rugini ve Gutierrez-Pesce, 2006a). Lambardi ve ark. (1999) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise “Canino” çeşidine ait somatik embriyolarının transformasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Zeytin transformasyonu ile ilgili diğer bir çalışmada, bitkinin fungal hastalıklara direncinin artırılması için, “Canino” çeşidine ait somatik embriyolar 35S promotörünün kontrolü altında *osmotin* genini içeren *A. tumefaciens* LBA4404 soyu ile trans-forme edilmiştir (Rugini ve Gutierrez-Pesce, 2006b). Son zamanlarda zeytin somatik embriyolarının transformasyonu hem *A. tumefaciens* (Torreblanca ve ark., 2008) hem de biyolistik yöntemi ile (Pérez-Barranco ve ark., 2007) başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Yakın gelecekte, transformasyon çalışmalarının protokol geliştirmenin ötesine geçebilmesi için zeytine ait daha çok geninin belirlenmesi gerekmektedir.

Sonuç

Zeytin bitkisi sahip olduğu uzun juvenil periyot ve geleneksel yöntemlerle üretilmesinde karşılaşılan köklenme sorunları nedeniyle genetik ıslahının yapılması henüz tam olarak başarılamamıştır. Pek çok çalışma, bu problemi ortadan kaldırmak için alternatif bir çözüm üretme üzerine yapılmaktadır. Bununla birlikte, geleneksel tekniklere alternatif olarak gösterilen pek çok yöntemde örneğin doku kültürü çalışmalarında, odunsu bitki türlerinde sıklıkla görülen bir takım zorluklar da türün çoğaltımında karşımıza çıkmaktadır. Türe ait doku kültürü çalışmalarında karşılaşılan en önemli sorun olan apikal dominans, farklı derişimlerde ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı, besiyeri makro ve mikro elementlerinin optimizasyonu ve biyoreaktör sistemlerinin denemesi gibi yöntemlerle çözülmeye çalışılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda yaygınlaşan genetik çeşitliliğinin korunmasına yönelik çalışmalarda, zeytin bitkisine ait türaltı taksonların ve akrabalık derecelerinin belirlenmesinde moleküler belirteçlerin kullanımı önem kazanmaktadır.

Kaynaklar

- Alcántara, E., Cordeiro, A.M., Barranco, D., 2003. Selection of olive varieties for tolerance to iron chlorosis. *J. Plant Physiol.*, 160:1467–1472.
- Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L., 1999. Olive Genetic Diversity Assessed Using Amplified Fragment Length Polymorphisms. *Theor. Appl. Genet.*, 98: 411-421.
- Baldoni, L., Pellegrini, M., Mencuccini, M., Angiolillo, A., Mulas, M., 2000. Genetic Relationships Among Cultivated and Wild Olives Revealed by AFLP Markers. *Acta Hort.* 521:275–284.
- Bandelj, D., Jakše, J., Javornik, B. 2002. DNA Fingerprinting of Olive Varieties by Microsatellite Markers. *Food Technology and Biotechnology*, Vol. 40, no. 3, p. 185-190.
- Bandelj, D., Jakše, J., Javornik, B. 2004. Assessment of Genetic Variability of Olive Varieties by Microsatellite and AFLP Markers. *Euphytica*, 136: 93-102.
- Banilas, G., Minas, J., Gregoriou, C., Demoliou, C., Kourti, A., Hatzopoulos, P. 2003. Genetic Diversity Among Accessions of an Ancient Olive Variety of Cyprus. *Genome*, 46:370-376.
- Bartolini, G., Petrucelli, R. 2002. Classification, Origin, Diffusion and History of the Olive. *Food and Agriculture Organization of the United Nation*. pp. 74.
- Belaj A., Diez, C., Satovic, Z., Baldoni L., Barranco D. 2005. Collection and Study of wild Olive Populations in Spain by Means of SSR Markers Vth International Symposium on Olive Growing, İzmir, Turkey, 123.
- Belaj, A., Satovic, Z., Cipriani, G., Baldoni, L., Testolin, R., Rallo, L., Trujillo, I . 2003. Comparative Study of the Discriminating capacity of RAPD, AFLP, and SSR Markers and of Their Effectiveness in Establishing Genetic Relationships in Olive. *Theor. Appl. Genet.*, 107:736–744.
- Belaj, A., Trujillo, I., de la Rosa, R., Rallo, L., Gimnez, M.J. 2001. Polymorphism and Discriminating Capacity of Randomly Amplified Polymorphic Markers in an Olive Germplasm bank. *J Am Soc Hortic Sci.*, 126:64–71.
- Besnard, G., Khadari, B., Baradat, P., Bervillé, A. 2001. *Olea europaea* (Oleaceae) Phylogeography based on Chloroplast DNA polymorphism. *Tag Theoretical And Applied Genetics*, Vol. 104, No, 8. pp. 1353-1361.

- Binet, M. N., Lemoine, M. C., Martin C., Chambon C., Gianinazzi S. 2007. Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) and application of mycorrhiza to improve plantlet establishment. *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant*, 43:473–478.
- Bourgin, J.P., Nitsch, J.P., 1967. Production of haploid *Nicotiana* from excised stamen. *Ann Physiol Veg* 9:377–382
- Busconi, M., Sebastiani, L., Fogher, C. 2006. Development of SCAR markers for germplasm characterisation in olive tree (*Olea europaea* L). *Mol. Breed.*, 17:59-68.
- Carriero, F., Fontanazza, G., Cellini, F., Giorio, G. Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.) *Theoretical and Applied Genetics*, February 2002, vol. 104, no. 2-3, p. 301-307.
- Cipriani, G., Marrazzo, M.T., Marconi, R., Cimato, A., 2002. Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 104: 223-228.
- De la Rosa, R., Angiolillo A., Guerriero C., Pillegrini M., Rallo L., Besnard G., Berville A., Martin A., Baldoni L. 2003. A first linkage map of olive (*Olea europaea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 1273-82.
- Diaz Bermudez., A., 2005. Desarrollo y caracterización de nuevos microsatélites y SNPs y aplicación en la mejora genética del olivo (*Olea europaea* L.), Ph.D. tesis, Departamento de Genética, Universidad de Córdoba—ETSIAM Córdoba, Spain, 180 pp.
- Driver, J.A., Kuniyuki, A.H., 1984. *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. *HortScience*, 19:507-509.
- Durgac, C., Kiyga, Y., Ulas, M., 2010. Comparative molecular analysis of old olive (*Olea europaea* L.) genotypes from Eastern Mediterranean Region of Turkey. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(4), pp. 428-433.
- Fabbri, A. 2006. Olive propagation: new challenges and scientific research. Proc. “2nd Int. Seminar OLIVEBIOTEQ 2006”, Special Seminars and Invited Lectures. Marsala- Mazara del Vallo, Italy, pp.411-421.
- Fabbri, A., Bartolini, G., Lambardi, M., Kailis, S., 2004. Olive Propagation Manuel. CSIRO Publ., Australia, pp.130.
- Fabbri, A., Hormaza, J.I., Polito, V.S., 1995. Random amplified polymorphic DNA analysis of olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 120 (3):538–542.
- Farahani, F., Peyvandi, M., Ataii, S., Hosseini Mazinani, M., 2006. *In vitro* micrografting: a technique to improve multiplication and rooting plantles. Proc. “2nd Int. Seminar OLIVE-BIOTEQ 2006”, Vol I. Marsala-Mazara del Vallo, Italy, pp.307-309.
- Fiorino, P., Leva, A.R., 1986. Investigations on the micropropagation of the olive (*Olea europaea* L.). Influence of some mineral elements on the proliferation and rooting of explants. *Olea*, 17:101–104.
- Gallitelli, M., Semeraro, L., Antonelli, N.M., 1991. RFLP analysis in the olive (*Olea europaea* L.). EMBO Course, Cologne, Germany.
- Ganino, T., Fabbri, A. 2005. Genetic characterization of *Olea europaea* L. germplasm in northern Italy. 5th international symposium on olive growing, 27 September–2 October 2004, Izmir (Turkey), pp.127.
- García-Ferriz, L., Ghorbel, R., Ybarra, M., Mari, A., Belaj, A., Trujillo, I., 2002. Micropropagation from adult olive trees. *Acta Hort.* 586, 879–882.
- Gemas, V.J., Rijo-Johansen, M.J., Tenreiro, R., Feveireiro, P., 2000. Inter-varietal and intra-varietal analysis of 3 *Olea europaea* L. cultivars using the RAPD technique. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 75: 312-319.
- Gemas, V.J.V., Almadanim, M.C., Tenreiro, R., Martins, A., Feveireiro, P., 2004. Genetic diversity in the olive tree (*Olea europaea* L. ssp. *europaea*) cultivated in Portugal revealed by RAPD and ISSR markers. *Genet Resour Crop Evol* 51:501–511.
- Hatzopoulos, P., Banilas, G., Giannoulia, K., Gazis, F., Nikoloudakis, N., Milioni, D., Haralampidis, K., 2002. Breeding, molecular markers and molecular biology of the olive tree. *Eur J Lipid Sci Technol.*, 104:574-586.
- Lambardi M., Benelli C., Amorosi A., Branca C., Caricato G. and Rugini E., 1999. Microprojectile-DNA delivery in somatic embryos of olive (*Olea europaea* L.). *Acta Hort.*, 474: 505-509.
- Lambardi, M., Benelli, C., De Carlo, A., Fabbri, A., Grassi, S., Lynch, P.T., 2002, Medium- and long- term *in vitro* conservation of olive germplasm (*Olea Europaea* L.). ISHS Acta Horticulturae 586: IV International Symposium on Olive Growing, pp. 165-174.
- Lambardi, M., Benelli, C., Ozden-Tokatli, Y., Ozudogru, E.A., Gumusel, F., 2006. A Novel Approach to olive Micropropagation: the Temporary Immersion system, Proc. “2nd Int. Seminar OLIVEBIOTEQ 2006”, Vol I: Marsala del Vallo, Italy, pp: 319-326.
- Leva, A.R., Petruccelli, R., Goretti, R., Panicucci, M., 1992. Ruolo di Alcuni Microelementi e Carboidrati Nella Proliferazione *in vitro* di cv. di olivo (*Olea europaea* L.). *Atti Conv. “Olive oil quality” Firenze 1992*, 333–334.

- Lloyd, G., McCown, B.H. 1980. Commercially Feasible Micropropagation of Mountain Laurel, (*Kalmia latifolia*) by use of Shoot Tip Culture. Int. Plant Prop. Soc., Comb. Proc., 30: 421-427.
- Mekuria, G.T., Collins, G.G., Sedgley, M., 1999. Genetic variability Between Different Accessions of Some Common Commercial Olive Cultivars. J. Hort. Sci. Biotechnol., 74: 309-314.
- Mencuccini, M., 2003. Effect of Medium Darkening on *in vitro* Rooting Capability and Rooting Seasonality of Olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Sci. Hort., 97:129–139.
- Mendoza-de Gyves, E., Mira, F.R., Ruiu, F., Rugini, E., 2008. Stimulation of Node and Lateral shoot Formation in micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) by using Dikegulac. Plant Cell Tiss Organ Cult 92:233–238.
- Montemurro, C., Simeone, R., Pasqualone, A., Ferrara, E., 2005. Genetic Relationships and Cultivar Identification Among 112 Olive Accessions Using AFLP and SSR Markers. J. Hort. Sci. Biotechnol., 80: 105-110.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. Physiol. Plant., 15:473–497.
- Owen, C.A., Bitá, E.C., Banilas, G., Hajjar, S.E., 2005. AFLP Reveals Structural Details of Genetic Diversity Within Cultivated Olive Germplasm from the Eastern Mediterranean. Theor. Appl. Genet. 110: 1169-1176.
- Özden, Y., Özüdoğru, E.A., Kaya, E., Akdemir, H., 2010. Zeytin (*Olea europaea*) Bitkisinin Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemleri (TIS) ile *in vitro* Sürgün Çoğaltımının İyileştirilmesi. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Dergisi, 1-1; 1-6.
- Peixe, A., Raposo, A., Lourenc, R., Cardoso, H., Macedo, E., 2007. Coconut water and BAP Successfully Replaced Zeatin in Olive (*Olea europaea* L.) micropropagation. Scientia Horticulturae 113; 1–7.
- Pérez-Barranco, G., Mercado, J.A., Pliego-Alfaro, F., Sánchez-Romero, C., 2007. Genetic Transformation of Olive Somatic Embryos Through Biolistics. ISHS Acta Horticulturae 738: International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species. Daytona Beach, Florida, USA.
- Peyvandi, M., Farahani, F., Noormohamadi, Z., Banihashemi, O., Mazinani, M.H., Ataee, S., 2009. Mass Production of *Olea europaea* L. (cv. Rowghani) Through Micropropagation, General and Applied Plant Physiology, Vol 35(1–2), pp. 35–43.
- Pontikis, C.A., Loukas, M., Kousounis, G., 1980. The use of Biochemical Markers to Distinguish Olive Cultivars. J. Hort. Sci. 55, pp. 333–343.
- Rallo, L., 2009. Iberian Olive Growing in a Time of Change. Chronica Horticulturae, vol. 49-4. pp.15-17.
- Revilla M. A., Pacheco J., Casares A., Rodriguez R. (1996). *In vitro* Cell. Dev. Biol.-Plant 32: 257-261.
- Roselli, G., Vendramin, G., Rossi, P., 1990. Patterns Isoenzimatici in Cultivar di Olivo. Atti XXXIV Convegno Societa di Genetica Agraria, Lecce, Italy.
- Rugini, E., 1984. *In vitro* Propagation of Some Olive (*Olea europaea sativa* L.) Cultivars With Different Root-Ability, and Medium Development Using Analytical data from Developing Shoots and Embryos. Sci. Hort., 24:123–134.
- Rugini, E., 1986. Olive, in: Bajaj, Y.P.S. (ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol 10. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York. pp.253-267
- Rugini, E., 1990 *In vitro* Culture of Olive: an Overview of the Present Scientific Status. Acta Hort., 286:93–96.
- Rugini, E., Baldoni, L., 2004 *Olea europea* Olive. In: Litz RE (ed) Biotechnology of Fruit and Nut crops. Chap 15 CABI Publishing, Noworty Way, Wallingford, Oxfordshire OX10 8DE, UK, pp 404–428.
- Rugini, E., Caricato, G., 1995. Somatic Embryogenesis and Plant Recovery From Mature Tissues of Olive Cultivars (*Olea europaea* L.) “Canino” and “Moraiolo”. Pl. Cell Rep., 14: 257-260.
- Rugini, E., Fedeli, E., 1990. Olive (*Olea europea* L.) as an oilseed crop. In: Bajaj, Y.B.S. (Ed.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 10. Legumes and Oilseed crops I. Springer, Heidelberg, pp. 593±641.
- Rugini, E., Gutierrez-Pesce, P. 2006b. Genetic Improvement of Olive. Pomologia Croatica 12:43–74
- Rugini, E., Gutierrez-Pesce, P., 2006a. Overview in the Olive biotechnologies. In: Caruso T, Motisi A, Sebastiani L (eds) Recent Advances in Olive Industry, 5–10 Nov 2006, Marsala, Italy, pp 317–329.
- Rugini, E., Jacoboni, A., Luppino, M., 1993. Role of Basal Darkening and Exogenous Putrescine Treatment on *in vitro* Rooting and on Endogenous Polyamine Changes in Difficult-To-Root Woody Species. Sci. Hort. 53, 63– 72.
- Rugini, E., Mariotti, D., 1992. *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA Genes and Rooting in Woody Species. Acta Hort. 3:301-308.
- Sánchez-Romeroa, C., Swennen, R., Panis, B., 2009. Cryopreservation of Olive Embryogenic Cultures. Cryoletters, Volume 30, Number 5, pp. 359-372.
- Santos, C.V., Brito, G., Pinto, G., M.A.C. Fonseca, H., 2003. Sci. Hort. 97(1):83-87.
- Seker, M., Dulger, S., Kaynas, N., 2005. Investigation of Genetic Diversity in Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars and Types Using Isozyme Analysis. Vth International Symposium on Olive Growing, İzmir, Turkey.105.

- Shibli, R.A., Al-Juboory, K.H., 2000. Cryopreservation of 'Nabali' Olive (*Olea europea* L.) Somatic Embryos by Encapsulation-Dehydration and Encapsulation-Vitrification. *CryoLetters*, 21(6):357-366.
- Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., Masia, A., 2004. Lipoxygenase Activity and Proline Accumulation in Leaves and Roots of Olive Tree in Response to Drought Stress. *Physiol Plant*, 121:58-65.
- Taamalli, W., Geuna, F., Banfi, R., Bassi, D., Daoud, D., Zarrouk, M. 2006. Agronomic and Molecular Analyses for the Characterisation of Accessions in Tunisian Olive Germplasm Collections. *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458 Vol.9 No.5, Issue of October 15, 2006.
- Torreblanca, R., Palomo-Ríos, E., Cerezo, S., Mercado, J.A., Pliego-Alfaro, F., 2008. Agrobacterium-Mediated Transformation of olive (*Olea europaea* L.) Embryogenic Cultures. *ISHS Acta Horticulturae* 839: I International Symposium on Biotechnology of Fruit Species: BIOTECHFRUIT 2008. Dresden, Germany.
- Troncoso A., Liñan J., Cantos M., Acebedo M. M., Rapoport H. F. (1999) *J. Hort. Sci. Biotech.*, 74: 584-587.
- Trujillo, I., Rallo, L., 1995. Identifying Olive Cultivars by Isozyme Analysis. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 120 pp. 318-324.
- Tsao, C.W.V., Reed, B.M., 2002. Gelling Agents, silver Nitrate, and Sequestrene iron Influence Adventitious Shoot and Callus Formation from Rubus Leaves. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant*, 38: 29-32.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., 1995. AFLP: a new Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23: 4407-4414.
- Zamora, R., Alaiz, M., Hidalgo, F. J., 2001. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 267.
- Zohary, D., Spiegel-Roy, P., 1975. Beginings of Fruit Growing in the World. *Science* 31, vol. 187, no. 4174, pp. 319-327.

İLETİŞİM

Ergün KAYA
Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Bitki Biyoteknolojisi Labotatuvarı,
41400, Gebze, Kocaeli
E-posta: e.kaya@gyte.edu.tr