



# DOFEBD

DOĞU FEN BİLİMLERİ DERGİSİ  
JOURNAL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES OF EAST

Vol/Cilt:2

Issue/Sayı:2

Year/Yıl: 2019



**HAKKARİ ÜNİVERSİTESİ FEN  
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DOĞU  
FEN BİLİMLERİ DERGİSİ**



Yılda 2 kez yayımlanır.

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

[dofebd@hakkari.edu.tr](mailto:dofebd@hakkari.edu.tr)

**Sahibi**

Prof. Dr. Ömer PAKIŞ  
Rektör

**Sorumlu Müdür**

Doç. Dr. Can YILMAZ

**Editörler**

Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ  
[metinertas@hakkari.edu.tr](mailto:metinertas@hakkari.edu.tr)

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Macit ERTUŞ  
[mehmetmacitertus@hakkari.edu.tr](mailto:mehmetmacitertus@hakkari.edu.tr)

**Editör Yardımcısı**

Dr. Öğr. Üyesi Sezen ÖZÇELİK  
[sezenozcelik@hakkari.edu.tr](mailto:sezenozcelik@hakkari.edu.tr)

**Mizanpajcı**

Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ

**Editör Kurulu**

Doç. Dr. Can YILMAZ  
Doç. Dr. Şevket ŞİMŞEK  
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Macit ERTUŞ

Doç. Dr. Mehmet Sait TAYLAN  
Dr. Öğr. Üyesi Melek ERDEK  
Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ

**Alan Editörleri**

Prof. Dr. Mehmet Nuri BODUR  
Doç. Dr. Şevket ŞİMŞEK  
Doç. Dr. Üyesi Hakan GÜNDOĞMUŞ  
Doç. Dr. Üyesi Ferit GÜRBÜZ  
Dr. Öğr. Üyesi Şule YÜCELBAŞ  
Dr. Öğr. Mustafa Emre AKÇAY  
Dr. Öğr. Üyesi Melek ERDEK  
Dr. Öğr. Üyesi Hamdullah SEÇKİN

Dr. Öğr. Üyesi Şengal BAĞCI TAYLAN  
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan GÜLER  
Dr. Öğr. Üyesi Muhammet KARABAŞ  
Dr. Öğr. Üyesi Gülistan KAYA GÖK  
Dr. Öğr. Üyesi Ali ERDUMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Selçuk EŞSİZ  
Dr. Öğr. Üyesi Emrah ÇELİK  
Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ

**Sekreter**

Cemalettin BUĞUTEKİN

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Bazı Bitkilerin Etil Alkol Ekstrelerinin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi Determination of Antimicrobial Properties of Ethyl Alcohol Extracts of Some Plants <b>Özlem Gülmez, Ömer Faruk Algur</b> .....	<b>54</b>
Mikrodalga Enerjisinin Buğdayda Çimlenme, Erken Fide Büyümesi ve Mitotik Bölünme Üzerine Etkisi Effect of Microwave Energy on Some Physiological Parameters and Mitotic Division of Wheat <b>Ayten EROĞLU, Nilüfer ÇİRİĞ SELÇUK</b> .....	<b>61</b>
<i>Nepeta transcaucasica</i> Grossh. Esansiyel Yağının Bazı Kültür Bitkileri ve Zararlı Otlar Üzerinde Herbisidal Etkisinin İncelenmesi Investigation of Herbicidal Effects of Essential Oil of <i>Nepeta transcaucasica</i> Grossh. on Some Cultivated and Weed Plants <b>Sinem Karakuş, Deniz Tiryaki, İhsan Aydın, Ökkeş Atıcı</b> .....	<b>69</b>
Gürpınar (Van) İlçesi Sınırları İçerisinde Bulunan, Şamran Kanalı Üzerinde Kurulmuş, Şifa Gökkuşuğu Alabalık Çiftliği'nin, Kanalın Su Kalitesi Üzerine Etkileri The Effects of the Healing Rainbow Trout Farm on the Water Quality of the Channel, which is Located on the Şamran Channel, Located within the Boundaries of Gürpınar (Van) District <b>İbrahim Koç, Erdal Öğün</b> .....	<b>80</b>
Hayvan Beslemede Kullanılan Bazı Yemlerin Organik Madde Sindirilebilirliklerinin İn Vivo ve İn Vitro Yöntemlerle Belirlenmesi Determination of Digestibility Organic Matter of Some Feed Used In Animal Nutrition by In Vivo and In Vitro Methods <b>Sevilay GÜL, Tülay ÖĞRETMEN</b> .....	<b>90</b>

## Bazı Bitkilerin Etil Alkol Ekstrelerinin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Özlem Gülmez<sup>1\*</sup> Ömer Faruk Algur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

\*e-mail: ozlmg90@gmail.com

Geliş tarihi/Received:18/04/2019

Kabul tarihi/Accepted:12/07/2019

### Özet

Bu çalışmada Erzurum ve çevresinden temin edilen; kocayemiş (*Arbutus unedo* L.), kızsöğüt (*Alnus glutinosa* L.), ayı üzümü (*Vaccinium myrtillus* L.), atkuyruğu (*Equisetum arvense* L.), livor (*Sambucus nigra* L.) ve ökse otu (*Viscum album* L.) bitkilerinin alkol özütleri elde edilmiş ve 5, 10, 20, 40, 60 µl konsantrasyonlarda *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella oxycota*, *Arthobacter agilis* bakterileri ve *Candida albicans* mayası üzerindeki antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. Bitkilerin teşhisi Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır. En iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bitki özütünün kızsöğüt bitkisine ait olduğu ve herhangi bir etki göstermeyen bitki özütünün ise ayı üzümü olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimler:** Bitki alkol özütü, Antimikrobiyal, Antifungal

### Determination of Antimicrobial Properties of Ethyl Alcohol Extracts of Some Plants

#### Abstract

In this study, obtained from Erzurum and its environs; alcohol extracts of plants kocayemiş (*Arbutus unedo*), kızsöğüt (*Alnus glutinosa*), ayı üzümü (*Vaccinium myrtillus*), atkuyruğu (*Equisetum arvense*), livor (*Sambucus nigra*) and ökse otu (*Viscum album*) were obtained. Antimicrobial effects of different concentrations (5, 10, 20, 40, 60 µl) of plants extracts were determined on *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella oxycota*, *Arthobacter agilis* bacteria and *Candida albicans* yeast. Plants were identified at the Biology Department of Atatürk University. It is determined that the plant extract with the best antimicrobial activity belongs to the kırmızı söğüt plant and the plant extract that does not show any effect belong to ayı üzümü.

**Keywords:** Plant alcohol extract, Antimicrobial, Antifungal.

#### Giriş

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde aşırı antibiyotik kullanımı ile birlikte antibiyotiklere dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması dünyanın yüzleştiği ciddi sağlık problemlerinden biridir. Ticari antibiyotiklere karşı çoklu dirençli olan bakterilerin artması ve yayılması hastalıkların tedavisinin uzun sürmesine hatta ölümlere sebebiyet vermektedir (Valle ve ark., 2015; Alsnafi, 2016). Tedavi için kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler yan etki göstermekte ve oldukça da pahalıdır. Bu nedenle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde potansiyel olarak etkili olabilecek diğer alternatif kaynaklar araştırılmaktadır. Bu amaçla kullanılabilir en iyi kaynaklar bitkilerdir (Moussaoui ve Alaoui, 2015; Sermeniuc ve ark., 2017; Abreu ve ark., 2017).

Bitkiler çok eski zamanlardan beri tedavi amaçlı kullanılmış, günümüzde de alternatif tıpta halen kullanılmaktadır (Taylor ve ark., 2013). Tıbbi ve aromatik bitkiler doğal floranın büyük bir kısmını oluşturmakta, farmakoloji, parfümeri, kozmetik endüstrisinin temel kaynağı durumundadır (Swemy ve Sinniah, 2016).

Besleyici özelliklerinin dışında bitkiler sahip oldukları sekonder metabolitler, flavonoidler, alkaloidler, terpenler ve uçucu yağlar içermeleri ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaları nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Sepahvand ve ark., 2014). Bu amaçla bitki kök, gövde, yaprak, kabuk ve meyveleri çeşitli bakteri ve funguslara karşı antimikrobik unsur olma potansiyeli araştırılmakta ve şaşırtıcı sonuçlar elde edilmektedir (Abreu ve ark., 2017).

Son yıllardaki çalışmalarda bitki kısımlarının dışında bitki özütlerinin antifungal, anti bakteriyel, antiviral ve biyoaktif özellikleri incelenmektedir (Oliveira ve ark. 2016). Soğan, zencefil, zerdeçal, tarçın, aloe vera, hint defnesi, böğürtlen, yavşan, hasırotu, mersin bitkisi gibi birçok bitki türünün biyoaktif madde içerikleri belirlenmeye çalışılmıştır (Gomathi ve ark. 2015; Sharifi Rad ve ark., 2017).

Çevremizde bulunan ve kocayemiş (yaban mersini), kızılsöğüt, ökse otu, ayı üzümü, atkuyruğu ve livor halk isimleriyle bilinen bitkilerin çeşitli kısımlarının bitki özütlerinin antimikrobiyal içeriklerinin belirlenmesi bu çalışmanın amacıdır.

## Materyal ve Yöntem

### Bitki materyalleri

Çalışmada kullanılan bitkiler Erzurum çevresinden temin edilmiş ve özüt elde edilen kısımları Çizelge 1’de verilmiştir.

Kullanılan bitkilerin kodları; kocayemiş (KY), kızılsöğüt (KS), ayı üzümü meyve (AÜM), yaprağı (AÜY) at kuyruğu (AK), ökse otu (ÖO) ve livor için (LVR) kullanılmıştır.

**Çizelge 1.** Çalışmada materyal olarak kullanılan bitkiler ve özüt elde edilen kısımları

Halk Arasındaki Adı	Familyası	Bitkinin Tür Adı	Kullanılan Kısım
Koca yemiş	Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Meyve
Kızıl söğüt, kızıl ağaç	Betulaceae	<i>Alnus glutinosa</i>	Yaprak
Ayı üzümü, yaban mersini	Ericaceae	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Meyve ve yaprak
Livor, Mürver, Şahmelik otu	Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i>	Meyve
Atkuyruğu	Equisetaceae	<i>Equisetum arvense</i>	Yaprak
Ökse otu, purç, gökçe, gevelek	Santalaceae	<i>Viscum album</i>	Yaprak

### Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı mikroorganizma kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar; *E. coli* (yerel izolat), *K. Oxycola* (yerel izolat), *B. cereus* (BC-On Ozdal ve ark., 2016a), *A. agilis* (A17 Ozdal ve ark., 2017) bakterileri ve *C. albicans* (yerel izolat) mayasıdır. Tüm denemelerde 18 saatlik aktif kültürlerden yararlanılmış ve bitki özütleri her mikro organizma için ayrı ayrı test edilmiştir.

## Bitki Özütlerinin Eldesi

Her bir bitki materyalinden 150 gr tartılmış yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 500 ml etanolün içine konulmuş ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalanmıştır. Daha sonra 3000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüj edilmiş süpernatant kısmı watman no1 filtre kağıdından geçirilerek tekrar üzerine 30 ml etanol konulmuş 50 °C'lik evaporatörden geçirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Basri ve Fan 2005). Etanol ekstraheleri, distile suda çözülerek antimikrobiyal çalışmalarında kullanılmıştır.

## Antimikrobiyal Etkilerin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları disk difüzyon metodu kullanılarak yapılmıştır (Bauer- Kirby, 1966). Bitki özütleri 5, 10, 20, 40, 60 µl olacak şekilde 6mm'lik boş streil disklerle emdirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite testi için Müeller-Hinton Agar (bakteri için) ve Sabouraud Dextrose Agar (maya için) kullanılmıştır. Tüm denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve inkubasyon sonrası, oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden kayıt altına alınmıştır.

## Bulgular

*C. albicans* mayası için bitki özütlerinin antifungal etkileri Çizelge 2'de verilmiş olup ayı üzümü yaprak ve meyve özütü, atkuyruğu özütü antifungal etki göstermemiştir.

**Çizelge 2.** *C. albicans* için özütlerin antifungal etkileri

<i>C.albicans</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	0,4	-	0,6	-	-	-	-
20µL	0,5	-	0,8	-	-	-	-
40µL	0,7	-	11	-	-	0,3	-
60µL	10	-	13	-	-	0,6	0,5

*E. coli* bakterisi için bitki özütlerinin antibakteriyal etkileri belirlenmiş ayı üzümü bitki özütünün hiçbir konsantrasyonu antibakteriyal etki göstermemiştir (Çizelge 3.).

**Çizelge 3.** Bitki özütlerinin *E.coli* üzerindeki etkisi

<i>E.coli</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	0,3	-	-	-	-
20µL	-	-	0,7	-	-	-	-
40µL	0,5	-	10	-	0,3	0,5	-
60µL	0,8	-	15	-	0,5	10	0,7

*B. cerreus* bakterisi için bitki özütlerinin antibakteriyel etkileri çizelge 4’de özetlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda etki gösteren bitki kıızılsöğüt (KS) olurken hiç etki göstermeyen bitki özütü ayı üzümü (AÜM ve AÜY) olmuştur.

**Çizelge 4.** Bitki özütlerinin *B.cerreus* üzerindeki etkisi

<i>B.cerreus</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	-	-	-	-	-
20µL	-	-	0,7	-	-	-	-
40µL	0,5	-	11	-	0,5	0,5	-
60µL	10	-	15	-	0,7	12	10

Bitki özütlerinin antibakteriyel etkisi kıızılsöğütün dört farklı konsantrasyonda *K. oxycota*’yı etkilemişken ayı üzümünün hiçbir konsantrasyonu bu bakterinin gelişmesini etkilememiştir (Çizelge 5).

**Çizelge 5.** Bitki özütlerinin *K. oxycota* üzerindeki etkisi

<i>K.oxycota</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	0,3	-	-	-	-
20µL	-	-	0,6	-	-	-	-
40µL	0,5	-	12	-	-	0,5	-
60µL	0,8	-	17	-	0,7	10	10

A. *agilis* içinde en iyi sonuçları veren kıızılsöğüt olup sonuçlar Çizelge 6’da verilmiştir.

**Çizelge 6.** Bitki özütlerinin *A. agilis* üzerindeki etkisi

<i>A.agilis</i>	İnhibisyon zonları (mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	-	-	-	-	-
20µL	-	-	0,6	-	-	-	-
40µL	0,7	-	10	-	-	0,5	-
60µL	10	-	20	-	0,9	10	10

## Tartışma ve Sonuç

Farklı bitkilerin farklı kısımları (kök, gövde, meyve) biyoaktif maddeler içermektedir. Bu biyoaktif bileşenler; flavonoidler, terpenler, karotenoidler, uçucu yağlar olabilir. Bitkilerin sekonder metabolitleri ve bitki özütleri çeşitli çalışmalarda patojen bakteri ve funguslara karşı denenmiş ve belli konsantrasyonlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur (Konyalıoğlu ve ark., 2005; De Martino ve ark., 2009; Oliviera ve ark., 2016; Sharifi Rad ve ark., 2017).

Bitkilerin yaprak ve meyveleri antioksidan madde içerdiklerinden dolayı gram pozitif ve gram negatif bakterilerin büyüme ve gelişmesini engellemektedir (Al Matani ve ark., 2015).

Çalışmamızda kullanılan kocayemiş (*Arbutus unedo*), bitki özütünün 40 µl ve daha sonraki konsantrasyonda antimikrobiyal etki göstermiş olup literatür çalışmalarına paralellik göstermektedir (Dib ve ark., 2013). Bölgemizden elde edilen *Alnus glutinosa* (kızılsöğüt) bitki özütünün antibakteriyal ve antifungal etkiye sahip olduğu ve hemen hemen her konsantrasyonda mikroorganizmaların gelişimini engellediği belirlenmiştir (Çizelge 2, 3, 4, 5, ve Çizelge 6). Çalışma sonucumuz literatür bilgileriyle örtüşmektedir (Dahija ve ark., 2014).

Ayı üzümü (*Vaccinium myrtillus*), bitkisinin hem meyve hem de yapraklarını özütü kullanılmış hiçbir konsantrasyonda antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. *V. Myrtillus*'un antimikrobiyal çalışmalarıyla karşılaştırıldığında Erzurum çevresinden toplanan bitkinin antimikrobiyal etkiye sahip olmaması bölgesel farklılıklardan olabileceği ihtimalini düşündürmektedir (Vuvic ve ark., 2013). Ya da çalışmada kullandığımız konsantrasyonlar üzerinde antimikrobiyal etki gösterebileceği veyahut etil alkol yerine başka çözücüler kullanılarak özüt eldesinde farklı antimikrobiyal etki göstereceği düşünülmektedir (Çizelge 2, 3, 4, 5, ve 6).

Atkuyruğu (*Equisetum arvense*) düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkiye sahip olmayan atkuyruğu özütü 40 ve 60 µl 'de aktivite göstermiştir. Daha önceki çalışmalarda gram pozitif bakterilerin gelişimini gram negatif bakterilere göre daha fazla inhibe ettiği bulunmuştur (Pereira ve ark., 2012). Sonuçlarımız bulguları desteklemektedir. Ayrıca antifungal özelliğe sahip olmadığı bulunmuştur (Çizelge 2, 5 ve 6).

Livor (*Sambucus nigra*) bitki özütünün 60 µl 'si hem antifungal hem de antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2, 3, 4, 5 ve 6). Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkileri çalışılmış günümüzde de tıbbi ve aromatik bitki özütlerinin antimikrobiyal etkisi çalışılmaktadır. Bu bitkilerden olan ökse otunun çeşitli çözücülerdeki özütleri farklı mikroorganizmalara karşı kullanılmış ve etkili sonuçlar bulunmuştur (Hussain ve ark. 2011). Bu çalışmada da ökse otunun etil alkol özütü kullanılmış ve 40 µl den sonra antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 2, 3, 4, 5 ve 6).

Çalışmamızda Erzurum çevresinden toplanan bitkilerin alkol özütleri elde edilerek, 5, 10, 20, 40, 60 µl konsantrasyonlarda *E.coli*, *B. Cerreus*, *K. Oxycota*, *A. agilis* bakterileri ve *C. albicans* mayasının büyüme ve gelişmesini engelleyip engellemediğine bakılmış ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarımıza göre; sadece ayı üzümü bitkisinin çalışmada kullanılan konsantrasyonlarının hiç birinin büyüme ve gelişmeyi durdurmadığı bulunmuştur. Kızılsöğütü en iyi antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği söylenebilir.

Ayrıca çalışmada etanol özütleri kullanılmış olup farklı organik çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkileri belirlenebilir ayı üzümü bitkisinin daha yüksek konsantrasyonlarının antimikrobiyal etkileri bulunabilir.

## Kaynaklar

Abreu, O. A., Sánchez, I., Barreto, G., Campal, A. C. (2017). Poor antimicrobial activity on seven cuban plants. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 8(1), 11.



- Al-Matani, S. K., Al-Wahaibi, R. N. S., Hossain, M. A. (2015). Total flavonoids content and antimicrobial activity of crude extract from leaves of *Ficus sycomorus* native to Sultanate of Oman. *Karbala International Journal of Modern Science*, 1(3), 166-171.
- Al-Snafi, A. E. (2016). Medicinal plants with antimicrobial activities (part 2): Plant based review. *Sch Acad J Pharm*, 5(6), 208-239.
- Basri, D. F., Fan, S. H. (2005). The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian journal of Pharmacology*, 37(1), 26.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4-ts), 493-496.
- Bessa Pereira, C., Gomes, P. S., Costa-Rodrigues, J., Almeida Palmas, R., Vieira, L., Ferraz, M. P., Fernandes, M. H. (2012). Equisetum arvense hydromethanolic extracts in bone tissue regeneration: in vitro osteoblastic modulation and antibacterial activity. *Cell proliferation*, 45(4), 386-396.
- Dahija, S., Čakar, J., Vidic, D., Maksimović, M., Parić, A. (2014). Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Alnus incana* (L.) Moench and *Alnus viridis* (Chaix) DC. extracts. *Natural product research*, 28(24), 2317-2320.
- De Martino, L., De Feo, V., Fratianni, F., Nazzaro, F. (2009). Chemistry, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of volatile oils and their components. *Natural product communications*, 4(12), 1741-50.
- Dib, M. E. A., Allali, H., Bendiabdellah, A., Meliani, N., Tabti, B. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(4), 381-385.
- Gomathi, D., Kalaiselvi, M., Ravikumar, G., Devaki, K., Uma, C. (2015). GC-MS analysis of bioactive compounds from the whole plant ethanolic extract of *Evolvulus alsinoides* (L.) L. *Journal of food science and technology*, 52(2), 1212-1217.
- Hussain, M. A., Khan, M. Q., Hussain, N., Habib, T. (2011). Antibacterial and antifungal potential of leaves and twigs of *Viscum album* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(23), 5545-5549.
- Konyalioğlu, S., Sağlam, H., Kivçak, B. (2005).  $\alpha$ -tocopherol, flavonoid, and phenol contents and antioxidant activity of *Ficus carica*. leaves. *Pharmaceutical biology*, 43(8), 683-686.
- Moussaoui, F., Alaoui, T. (2016). Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), 32-37.

- Oliveira, B. D. Á., Rodrigues, A. C., Cardoso, B. M. I., Ramos, A. L. C. C., Bertoldi, M. C., Taylor, J. G., Pinto, U. M. (2016). Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of *Rubus rosaefolius* phenolic extract. *Industrial Crops and Products*, 84, 59-66.
- Ozidal, M., Ozdal, O. G., Sezen, A., Algur, O. F. (2016a). Biosynthesis of indole-3-acetic acid by *Bacillus cereus* immobilized cells. *Cumhuriyet Science Journal*, 37, 212-222.
- Ozidal, M., Ozdal, O. G., Algur, O. F. (2016b). Isolation and characterization of  $\alpha$ -endosulfan degrading bacteria from the microflora of cockroaches. *Polish Journal of Microbiology*, 65, 63-68.
- Semeniuc, C. A., Pop, C. R., Rotar, A. M. (2017). Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal Of Food And Drug Analysis*, 25(2), 403-408.
- Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Veiskarami, G. H., Ghasemian-Yadegari, J. (2014). Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S491-S496.
- Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., Ayatollahi, S. A., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, M., Afdjei, M. H., Sharifi-Rad, M., Iriti, M. (2017). Plants of the Melaleuca genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475-1494.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- Taylor, P., Arsenak, M., Abad, M. J., Fernández, Á., Milano, B., Gonto, R., ... & Michelangeli, F. (2013). Screening of Venezuelan medicinal plant extracts for cytostatic and cytotoxic activity against tumor cell lines. *Phytotherapy Research*, 27(4), 530-539.
- Valle Jr, D. L., Andrade, J. I., Puzon, J. J. M., Cabrera, E. C., Rivera, W. L. (2015). Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, 5(7), 532-540.

## Mikrodalga Enerjisinin Buğdayda Çimlenme, Erken Fide Büyümesi ve Mitotik Bölünme Üzerine Etkisi

Ayten EROĞLU<sup>1\*</sup> Nilüfer ÇİRİĞ SELÇUK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Van, Türkiye

\*e-mail: ayteneroglu@gmail.com

Geliş tarihi/Received:26/06/2019

Kabul tarihi/Accepted:18/07/2019

### Özet

Bu çalışmada, mikrodalga enerjisinin buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Tir ve Bezostaja) tohumlarında çimlenme, erken fide büyümesi ve mitotik bölünme üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. İki kışlık buğday çeşidine ait tohumlar mikrodalga fırında 30, 60 ve 90 saniye süre ile orta dereceli enerjiye (460 W) maruz bırakılmıştır. Kontrol olarak mikrodalga uygulanmamış tohumlar kullanılmıştır. Kontrol ve mikrodalga uygulanmış tohumlar ortalama 25 °C sıcaklık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyotta 1 hafta süreyle çimlenme ve fide büyümesi açısından gözlemlenmiştir. 2 günlük çimlenmiş tohumların kök uçları fikse edildikten ve asetik orsein ile boyandıktan sonra mitotik bölünme fazları incelenmiştir. Mikrodalgaya maruz bırakılmış tohumların çimlenme yüzdeleri kontrol bitkilerine göre önemli oranda düşük bulunmuştur. Bu etki, sürenin uzamasına bağlı olarak artmaktadır. Fidelerin kök ve gövde uzunluğu ile kök ve gövde yaş ağırlıkları üzerinde mikrodalga enerjisinin negatif bir etkisi görülmediği gibi mitotik bölünme fazlarında ve kromozom yapısında herhangi bir anormallik gözlenmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Buğday, Mikrodalga enerjisi, Çimlenme, Mitotik bölünme

### Effect of Microwave Energy on Some Physiological Parameters and Mitotic Division of Wheat

#### Abstract

This study was conducted to examine the effects of microwave energy on germination, early seedling growth and mitotic division of wheat (*Triticum aestivum* L. cvç Tir and Bezostaja). Seeds of two winter wheat variety were exposed to middle level microwave energy (460 W) for 30, 60, 90 seconds in a household type microwave oven. For control, seeds not subjected to micrawave energy were used. Germination and seedling growth of control and microwave treated seeds at approximately 25 °C and 16 h light/8 hour dark photoperiod were observed for 7 days. Mitotic division phases were examined using fixed and stained root tips of germinated wheat seeds for two days. Germination percentage of microwave treated seeds was much lower than control ones. This effect was increased with prolonged exposure. As well as there was no negative effect of microwave energy on root and shoot lengths and fresh weights, any abnormalities on mitotic division phases and chromosome structure were not observed.

**Keywords:** Wheat, Microwave energy, Germination, Mitotic division

#### Giriş

Mikrodalgalar 300 MHz- 300 GHz frekans, 1mm-1m dalga boyuna sahip, iyonize edici olmayan, elektromanyetik spektrumun radyo dalgaları ile kızıl ötesi ışınlar arasında yer alan dalgalardır (Banik ve ark., 2003). II. Dünya Savaşı yıllarında askeri amaç için radar vakum tüpleri konusunda yapılan araştırmalar sırasında tesadüfen mikrodalganın aynı zamanda yiyecekleri ısıtma amaçlı kullanılabilceği bulunmuştur

(Osepchuk, 1984). Bilimsel, medikal ve endüstriyel amaçlı mikrodalga ısıtma için, çoğunlukla Federal İletişim Komitesi (FCC) tarafından onaylanan 2 frekans (0.915 ve 2.45 GHz) kullanılmaktadır. 2.45 GHz frekans su moleküllerinin rezonans frekansı olması sebebiyle genellikle ev tipi mikrodalga fırınlarda kullanılmasına rağmen, son yıllarda malzeme işleme amaçlı olarak 0.9-18 GHz arasında frekansa sahip mikrodalga fırınlar geliştirilmiştir (Lauf ve ark., 1993).

Geleneksel ısıtma yöntemlerinde, ısı materyale konveksiyon, kondüksiyon ve radyasyon gibi yollarla transfer edilir, mikrodalga enerjisi ise elektromanyetik alanla moleküler etkileşim yoluyla maddelere doğrudan aktarılır. Mikrodalga ısıtma ısı transferi değil, elektromanyetik enerjinin termal enerjiye transferini sağlayan bir enerji dönüşümüdür. Mikrodalgaların metal dışındaki maddelerden geçebilme ve su içeren maddeler tarafından emilme gibi özellikleri, ısınmanın yüzeyden başladığı geleneksel ısıtma yöntemlerinin aksine mikrodalga ile hızlı ve homojen bir ısıtma yapılabilmesini mümkün kılar (Thostenson ve Chou, 1999).

Farklı alanlarda kullanımı olan mikrodalga uygulamalarına örnek olarak seramik üretiminde sinterleme (Meek ve ark., 1987), sentezleme, liç işlemi, kurutma, ısıtma (Yıldız ve Alp, 1999; Kutbay ve Kuşkonmaz, 2004), gıda teknolojisinde buz çözme (Taher ve Farid, 2001), pişirme (Knutson ve ark., 1987), haşlama (Lin ve Brewer, 2005), kurutma (Vadivambal ve Jayas, 2007; Erdem, 2007), sterilizasyon (Pucciarelli ve Benassi, 2005), pastörizasyon (Schlegel, 1992), tarım alanında toprak sterilizasyonu (İslam ve Weil, 1998), yabancı ot kontrolü (Sartorato ve ark., 2006), zararlı kontrolü (Kılıç ve ark., 2016; Vadivambal ve ark., 2010), çimlenmeyi arttırma (Ragha ve ark., 2011) verilebilir.

Mikrodalgalar uzun dalga boylarına sahip oldukları için enerjileri düşüktür, böylece gıdalar veya biyolojik materyallerle mikrodalgaların etkileşimi sonucu radyoaktivite ortaya çıkmadan maddeyi ısıtmak mümkündür (Bih, 2003). Ancak mikrodalgaların biyolojik etkilerinin tanımlanması ve değerlendirilmesi komplekstir ve bu yüzden tartışmalıdır. Son yıllarda mikrodalgaların dokular üzerinde ısıya bağlı olmayan etkilerinin olabileceği ile ilgili araştırmalar yapılmıştır (Banik ve ark., 2003).

Bu çalışmada, orta derecede mikrodalga enerjisinin iki kışlık buğday çeşidinde (*Triticum aestivum* L. cv. Tir ve Bezostaja) çimlenme, vejetatif büyüme ve mitotik bölünme üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılacak olan iki kışlık buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Tir ve Bezostaja) çeşidine ait tohumlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilmiştir. Mikrodalga uygulamaları için Beko MD2610 model ev tipi mikrodalga fırın kullanılmıştır.

## Yöntem

Denemeler Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga uygulamaları için buğday tohumları 30, 60 ve 90 saniye süreyle ev tipi bir mikrodalga fırında orta dereceli enerjiye (2.45 GHz, 460 W) maruz bırakılmıştır. Kontrol denemeleri için mikrodalga muamelesi görmemiş tohumlar kullanılmıştır. Uygulamalar için benzer görünüşlü tohumlar seçilmiştir. Mikrodalga uygulamasının ardından kontrol ve mikrodalgaya maruz kalan

tohumların yüzey sterilizasyonu 15 dakika boyunca % 5 hidroklorik asit kullanılarak yapılmıştır. 3 kez distile su ile yıkanan tohumlar filtre kağıdı yerleştirilmiş petri kaplarına her birine eşit miktarda (20 adet) tohum olacak şekilde yerleştirilmiş ve distile su kullanılarak her gün düzenli olarak sulanmıştır. Tohumlar ortalama 25 °C sıcaklık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyotta laboratuvar koşullarında 1 hafta süreyle çimlenme ve vejetatif büyüme açısından gözlenmiştir. 3. günün sonunda tohumların % çimlenme oranları kaydedilmiş, 7. günde fideciklerin kök ve gövde uzunluğu ile yaş ağırlık değerleri alınmıştır. Kök ve gövde yaş ağırlık ölçüm değerlerinin alınabilmesi için kök ve gövde birbirinden ayrılmış, kurutma kağıdı ile fazla nem uzaklaştırıldıktan sonra her bir uygulama grubuna ait kök ve gövde parçalarının toplu olarak ağırlık ölçümleri kaydedilmiş, bulunan değerler bitki sayısına bölünerek ortalaması alınmıştır. Denemeler en az 3 biyolojik ve 3 teknik tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Mitotik bölünme denemeleri için 2. günün sonunda çimlenen buğday tohumlarının kök uçları carnoy çözeltisi kullanılarak fikse edilmiştir. 1 N HCl ile muamele edilen kök uçları asetik orsein boyası ile boyanarak ezme preparat yöntemiyle mikroskop altında incelenmiştir.

## Bulgular ve Tartışma

### Buğdayda Erken Fide Büyümesine İlişkin Bulgular

Çimlenme değerlerine ait sonuçlar incelendiğinde, kontrol tohumlara göre mikrodalga uygulamasının her iki buğday çeşidinde de çimlenmeyi azaltıcı etkisinin bulunduğu görülmektedir. Buğday tohumlarının mikrodalga fırında enerjiye maruz kalma süreleri uzadıkça tohumların çimlenme kapasitelerinde önemli oranda düşüşler gözlenmiştir. Her iki çeşitte de en düşük çimlenme değerleri 90 saniye mikrodalgaya maruz kalmış tohumlardan elde edilmiştir. *Triticum aestivum* L. cv. Tir çeşidinde kontrole göre çimlenme değerindeki azalma 30 saniyede % 8, 60 saniyede % 40, 90 saniyede % 70 olmuştur. *Triticum aestivum* L. cv. Bezostaja çeşidinde ise bu değerler sırasıyla % 3, % 47 ve % 58'dir (Tablo 1). % çimlenme değerleri karşılaştırıldığında Bezostaja çeşidinin Tir çeşidine göre mikrodalga uygulamasına daha dayanıklı olduğu görülmektedir.

**Tablo 1.** Orta derecede mikrodalga enerjisinin Tir ve Bezostaja buğday çeşitlerinde çimlenme üzerine etkisi

	% Çimlenme	
	Tir	Bezostaja
<b>Kontrol</b>	96.6	93.3
<b>30 s</b>	88.8	90.0
<b>60 s</b>	56.6	46.6
<b>90 s</b>	26.6	35.3

Davis ve ark. (1971) mikrodalga ısıtmanın tohumlar üzerinde öldürücü etkisiyle ilgili yaptıkları çalışmada tohum hasarının tohumun su içeriği ve tohum tarafından absorbe edilen enerjiye bağlı olduğunu, fitotoksik etkinin kuru tohumlarda düştüğünü, bazı bitki türlerinin çok duyarlı olduğu halde bazılarının direnç gösterdiğini, ayrıca tohum kütlesi ve büyüklüğünün de türler arasında mikrodalga uygulamalarındaki sonuçlar üzerinde etkili olduğunu bulmuştur. (Davis ve ark., 1973). Yabani yulaf ve İngiliz çimine göre tane ağırlığı daha fazla olan buğday tohumlarının mikrodalga

uygulamalarına daha hassas olduğu belirlenmiştir (Brodie ve ark., 2007). Tohum kütlesi azaldıkça mikrodalgaya dayanıklılık artmaktadır. (Brodie ve Hollins, 2015).

Mercimek (*Lens culinaris* Med.) tohumları ile yapılan bir çalışmada 2.45 GHz frekansa sahip bir magnetron mikrodalga kaynağı olarak kullanılmıştır.. 0, 30, 60, 90 ve 120 saniye boyunca mikrodalga (450 W) muamelesi uygulanan tohumların çimlenme değerleri incelendiğinde 30 saniyelik uygulamada çimlenmede artış görülürken, süre uzadıkça çimlenme değerlerinde belirgin bir düşüş olduğu ve 120 saniyelik uygulamanın çimlenmeyi tamamen engellediği bulunmuştur (Aladjadjiyan, 2010).

Motallebi (2016)'nin kanola, soya fasulyesi ve aspir ile yaptığı bir çalışmada 2450 MHz frekanslı mikrodalgaya 0, 100, 200, 400, 600 ve 800 W güç seviyelerinde üç ve beş dakika boyunca maruz kalan tohumların tohum canlılığı ve güç seviyesi arasında negatif yönde bir ilişki olduğunu bulunmuştur. Ayrıca mikrodalga radyasyonunun tohum çimlenme yüzdesini de düşürdüğü görülmüştür.

Iuliana ve ark. (2013) arpa (*Hordeum vulgare* L.) tohumları üzerine mikrodalga radyasyonunun etkilerini inceledikleri araştırmalarında 2.45 GHz frekanslı bir magnetron kullanmışlardır. Arpa tohumları 400 W ve 720 W olmak üzere iki farklı enerji seviyesinde 30, 60 ve 90 saniye tutulduktan sonra tohumların çimlenmeleri 3, 7 ve 10 gün boyunca gözlenmiştir. Çimlenme değerleri 30 saniye boyunca 400 W enerji alan bitkilerde kontrol tohumlara göre artış gösterirken, artan süre ve enerji düzeylerinin tohum çimlenmesi üzerine önemli derecede inhibe edici etkisinin olduğu bulunmuştur. Yüksek enerji seviyelerinde moleküller tarafından absorbe edilen enerji miktarı artmakta, aynı zamanda uygulama süresi uzadıkça hücre fonksiyonları üzerinde tahrip edici etki olmaktadır.

Bamya ve mısırın 2450 MHz mikrodalga radyasyonu ile 1, 2, 3 ve 5 saniye muamelesi sonucu mısır tohumlarının çimlenmesinin mikrodalgadan etkilenmediği, buna karşılık bamya tohumlarının mikrodalga uygulamasında çimlenme değerlerinde kontrol değerlerle karşılaştırıldığında düşüş olduğu bulunmuştur (Naeem ve ark, 2013).

Mikrodalga uygulaması ayrıca topraklardaki yabancı ot tohumlarının elimine edilmesi için kullanılabilir. Yabancı otlarla mücadelede sıklıkla herbisitler kullanılmakta, ancak zaman içinde bitkilerde herbisit direnci gelişebilmekte, bu yüzden yeni kontrol stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yabani yulaf ve diğer ot tohumlarının bulunduğu bir toprağa mikrodalga uygulandığında tohum hassasiyetinin tamamen ısıya bağlı olduğu bulunmuştur. Toprak sıcaklığı 75 °C'ye yükseldiğinde tohum çimlenmesinde ani bir düşüş görülürken, 80 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda tohum çimlenmesi tamamen inhibe olmuştur (Barker ve Craker, 1991). 126 saniye boyunca mikrodalga enerjisine maruziyet roka ve tere tohumlarının çimlenmesini % 100'e varan bir oranda engellemiştir (Şahin, 2014). Çim ve yabani turp bitkisi tohumlarının topraktan elimine edilebilmesi için gerekli mikrodalga enerjisi miktarının araştırıldığı bir çalışmada bu tohumlar için % 100 oranında ölümcül etki yapan değerler belirlenmiştir (Brodie ve Hollins, 2015). Çalışmamızda orta seviyede mikrodalga enerjisinin uygulama süresi uzadıkça tohum çimlenmesi üzerine çimlenmeyi engelleyici etkisinin bulunmasının mikrodalga fırın içinde oluşan ısı artışına bağlı olarak tohumda embriyo ve benzeri yapıların hasar görmesi sonucu olduğu düşünülmektedir.

Çeşitli stres faktörleri veya içsel faktörler yüzünden tohum çimlenmesinin engellendiği durumlarda priming ismi verilen bazı uygulamalarla çimlenmeme sorunlarının önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemlerden bir tanesi mikrodalga uygulamasıdır (Campbell, 1977). Sert ve geçirgen olmayan bir kabuğa sahip akasya tohumlarıyla yapılan bir çalışmada 2450 MHz mikrodalga enerjisine maruz kalan

tohumların kabuklarının geçirgenliğinin artmasıyla çimlenme değerlerinde artış olduğu belirlenmiştir (Tran, 1979). Kimyon tohumları 20 W mikrodalga radyasyonunda 40 ve 50 saniye muamele edildiğinde tohumların çimlenme seviyesinde artış görülürken, 60, 70 ve 80 saniye mikrodalga uygulamasının tohum çimlenmesi üzerinde engelleyici etkisinin olduğu bulunmuştur (Amirnia ve ark., 2015). 200 ve 300 W mikrodalga enerjisinde 20 saniye boyunca tutulan soya fasulyesi tohumlarının çimlenme değerlerinin arttığı görülmüştür (Ghiyasi ve ark., 2011).

Mikrodalga uygulamasının bir hafta boyunca gözlemlenen kök ve gövde büyümesi üzerinde engelleyici etkisi bulunmamıştır. Tir çeşidinde kontrol ve mikrodalga uygulaması ile elde edilen kök uzunluğu değerleri arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Aynı çeşidin gövde uzunluğu değerlerine ait sonuçlar incelendiğinde mikrodalga uygulamalarının kontrole göre gövde uzunluğunu artırıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Bezostaja çeşidine ait kök uzunluğu değerlerinin mikrodalga uygulamasında Tir çeşidine benzer şekilde önemli bir değişim göstermediği, buna karşın gövde uzunluğu değerlerinin kontrol uygulamasına göre yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 2).

Kök yaş ağırlığı değerleri incelendiğinde Tir ve Bezostaja çeşidinde 30 ve 60 saniyelik mikrodalga uygulamalarında kontrole göre ağırlık değerlerinde artma gözlenirken, 90 saniyelik uygulamada kontrol uygulamasına göre bir farklılık görülmemiştir. Gövde yaş ağırlık değerlerinde her iki çeşitte de mikrodalga uygulamasında kontrol değerlere göre artış bulunmuştur (Tablo 3).

**Tablo 2.** Orta derecede mikrodalga enerjisinin Tir ve Bezostaja buğday çeşitlerinde kök ve gövde uzunluğu üzerine etkisi (SE: standart hata)

	Kök uzunluğu (cm) ± SE		Gövde uzunluğu (cm) ± SE	
	Tir	Bezostaja	Tir	Bezostaja
<b>Kontrol</b>	11.87 ± 0.87	12.22 ± 0.8	12.08 ± 0.85	10.87 ± 0.97
<b>30 s</b>	12.35 ± 0.75	12.81 ± 0.96	14.58 ± 1.69	11.72 ± 0.73
<b>60 s</b>	11.75 ± 0.88	11.15 ± 0.64	13.24 ± 1.21	12.16 ± 0.85
<b>90 s</b>	12.12 ± 0.76	11.56 ± 0.72	14.24 ± 1.63	12.22 ± 0.72

**Tablo 3.** Orta derecede mikrodalga enerjisinin Tir ve Bezostaja buğday çeşitlerinde kök ve gövde yaş ağırlığı üzerine etkisi (SE: standart hata)

	Kök yaş ağırlığı (mg) ± SE		Gövde yaş ağırlığı (mg) ± SE	
	Tir	Bezostaja	Tir	Bezostaja
<b>Kontrol</b>	40.5 ± 1.68	28.00 ± 1.35	77.6 ± 2.91	70.15 ± 2.10
<b>30 s</b>	56.79 ± 1.82	40.59 ± 2.23	83.45 ± 1.98	74.00 ± 2.47
<b>60 s</b>	59.87 ± 2.18	41.03 ± 2.03	103.77 ± 3.22	81.31 ± 1.88
<b>90 s</b>	34.21 ± 2.25	29.49 ± 1.61	89.85 ± 2.43	82.68 ± 1.74

Hamada (2007) yaptığı bir araştırmada buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sakha 61) tohumlarını 15, 45 ve 75 dakika boyunca 2.85 cm dalga boyu ve 10.525 GHz frekansa sahip mikrodalga radyasyonuna maruz bırakmıştır. Çimlenen tohumlar 7 ve 14 gün sonra hasat edilmiş, 15 ve 45 dakika mikrodalga uygulanan tohumlarda gövde uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık değerlerinin arttığı görülmüştür.

Buğday, nohut, maş fasulyesi ve güve fasulye (matki) ile yapılan bir çalışmada farklı güç seviyeleri ve uygulama sürelerinin çimlenmeyi ve fidelerin büyüme parametrelerini artırıcı etkisinin olduğu bulunmuştur. Artan güç ve uygulama süresine bağlı olarak çimlenme, gövde ve kök uzunluğu, biyokütle gibi değerlerde kontrole kıyasla azalmalar gözlenmiştir. Düşük mikrodalga güç seviyelerinde ise daha iyi fide

büyümesinin olduğu belirlenmiştir. Artan frekans çimlenme ve biyokütle üzerinde artırıcı etki göstermiştir. Çimlenme ve fizyolojik parametrelerin bitki türlerine bağlı olarak farklılık gösterdiği bulunmuştur (Ragha ve ark., 2011). Yaptığımız çalışmada iki buğday çeşidi arasında çimlenme ve fizyolojik değerler arasında farklılıkların olması mikrodalga uygulamalarından türlerin farklı şekilde etkilendiğini doğrulamaktadır. Ayrıca büyüme artışının mikrodalga enerjisine bağlı olarak tohumdaki karbohidratların parçalanması ve besin maddelerinin embriyoya aktarılması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Dario ve Salgado, 1994).

### **Mitotik Bölünme Parametrelerine İlişkin Bulgular**

Artan sürelerde orta derecede mikrodalgaya maruz kalan iki buğday çeşidinin tohumlarının 2 günlük çimlenme periyodunun ardından kök uçları kullanılarak yapılan çalışmada, orta derecede mikrodalga enerjisinin her iki buğday çeşidinde mitoz bölünme evreleri ve kromozom yapısı üzerinde herhangi bir anormalliğe sebep olmadığı bulunmuştur.

Mısır tohumları TEM (transverse electromagnetic) hücre içinde, 1 GHz frekansa sahip, 10 W ve 17 W güç seviyesinde düşük düzeyde mikrodalga altında 30, 60 ve 180 saniye boyunca tutulmuştur. Mikrodalga muamesesi gören tüm örneklerde bölünen hücre sayısının azaldığı, bu etkinin uygulama süresi uzadıkça arttığı görülmüştür. Bunun yanında kromozom yapısında da değişimler görülmüştür. İnterfazda mikronukleus oluşumu, anafazda kırılmış kromozomlar ve kromozom köprüsü oluşumu gözlenen anormallikler arasında bulunmaktadır (Răuciu ve ark., 2014).

Radyofrekans elektromanyetik alanlar elektromanyetik spektrumun uzun dalga boyulu, düşük frekanslı ve enerjili kısmını oluşturmaktadır. Tkalec ve ark. (2009) soğan tohumları üzerine radyofrekans elektromanyetik alanların etkisini araştırmışlardır. Tohumlar 400 ve 900 MHz olmak üzere iki farklı frekansta ve farklı alan güçlerinde ( 0, 23, 41 ve 120 V m<sup>-1</sup>) 2 saat tutulmuştur. 400 ve 900 MHz'de yüksek alan gücünde mitotik indekste artışlar görülürken, aynı zamanda kontrolle kıyaslandığında yüksek oranda mitotik anormalliklerin olduğu bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada orta derecede mikrodalga enerjisinin buğdayda mitotik bölünme ve kromozom yapısı üzerinde herhangi bir değişikliğe sebep olmamasının bitki türlerinin mikrodalgadan farklı şekilde etkilenmesi, uygulama yöntemi ve süresi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Davis ve ark. (1973) tohum kütlesi ve büyüklüğü arttıkça bitki türlerinin mikrodalgaya daha duyarlı hale geldiğini belirtmiştir.

### **Sonuç**

Bu çalışmada orta derecede mikrodalga enerjisinin buğday tohumlarında çimlenme, erken fide büyümesi ve mitotik bölünme fazları üzerine olan etkisi incelenmiştir. Buğday tohumlarının mikrodalga fırın içinde kalma süresi uzadıkça çimlenme oranlarında buna paralel olarak düşüşler gözlenmiştir. Mikrodalga uygulamasının kök ve gövde uzunluğu ile yaş ağırlık gibi erken fide büyümesine ait değerlerde olumsuz bir etkisi görülmemiştir. Fide büyümesine ait değerlere benzer şekilde mitotik bölünme fazlarında mikrodalganın herhangi bir anormalliğe neden olduğu gözlenmemiştir. Bu çalışmanın devamı olabilecek ve buna benzer daha ileri çalışmalar için yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.



## Kaynaklar

- Aladjadjiyan, A. (2010). Effect of microwave irradiation on seeds of lentils (*Lens culinaris* Med.). *Romanian Journal of Biophysics*, 20(3), 213-221.
- Amirnia, R., Ghiyasi, M., Tajbakhsh, M. (2015). Effect of microwave radiation period on germination of cumin. *4th National Congress on Medicinal Plants*, 12- 13 May, Tehran, Iran.
- Banik, S., Bandyopadhyay, S. and Ganguly, S. (2003). Bioeffects of microwave-a brief review. *Bioresource Technology*, 87(2), 155-9.
- Barker, A.V., Craker, L.E. (1991). Inhibition of weed seed germination by microwaves. *Agronomy Journal*, 83(2), 302–305.
- Bih, J.Z. (2003). The microwave technology. *13th Int. Crimean Conference Microwave and Telecommunication Technology*, 15-21.
- Brodie, G., Botta, C., Woodworth, J. (2007). Preli-minary investigation into microwave soil pasteurization using wheat as a test species. *Plant Protection Quarterly*, 22(2):72-75.
- Brodie, G., Hollins, E. (2015). The effect of microwave treatment on ryegrass and wild radish plants and seeds. *Global Journal of Agricultural Innovation, Research & Development*, 2, 16-24.
- Campbell, G. S.(1977). *An introduction to environmental biophysics*. Springer-Verlag, N.Y., USA.
- Dario, A. C., Salgado, J. M. (1994). Supplementation of irradiated and non-irradiated cowpea bean (*Vigna unguiculata* L. var. *walp*) protein with cereal proteins. *Plant Foods Human Nutr.*, 46, 213-219.
- Davis, F. S., Wayland, J. R., Merkle, M. G. (1971). Ultrahighfrequency electromagnetic fields for weed control: phytotoxicity and selectivity. *Science*, 173(3996), 535–537.
- Davis, F. S., Wayland, J. R., Merkle, M. G. (1973). Phytotoxicity of a UHF electromagnetic field. *Nature*, 241 (5387), 291–292.
- Erdem, T. (2007). *Ozonlu su ile yikanan kırmızı pul biberin mikrodalga enerjisi ile kurutulması*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Makinaları Anabilim Dalı, Adana, 78 sayfa.
- Ghiyasi, M., Amirnia, R., Tajbakhsh, M., Hassanzadeh, A., Valizadegan, G.O. (2011). Effect of microwave radiation on germination and seedling growth of soybean (*Glycine max*) seeds. *9. Tarla Bitkileri Kongresi*, 12-15 Eylül, Bursa.
- Hamada, E. A. M. (2007). Effects of microwave treatment on growth, photosynthetic pigments and some metabolites of wheat. *Biologia Plantarum*, 51(2), 343-345.
- Islam, K. R., Weil, R. R. (1998). Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biology and Fertility of Soils*, 27(4), 408-416.
- Iuliana, C., Giancarla, V., Sorina, R. (2013). The effect of microwave irradiation on the germination of barley seeds (*Hordeum vulgare* L.). *48th Croatian & 8th International Symposium on Agriculture* , Dubrovnik , Croatia.
- Kılıç E., Çelen S., Önler E., Durgut M. R., Çelen İ. H., Kılıç N., Kama N. (2016). Effectiveness of microwave energy as a tool for red spider (*Tetranychus urticae*) control and their side effects on some vegetable plants, *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 4, 18-25.
- Knutson, K.M., Marth, E.H., Wagner, M.K. (1987). Microwave heating of food. *Lebensm.Wiss. u.Technol.*, 20, 101-110.

- Kutbay, I., Kuşkonmaz, N. (2004). Mikrodalga ısıtmanın seramik üretiminde kullanılması. *Metalurji Dergisi*, 137.
- Lauf, R. J., Bible, D. W., Johnson, A. C., Everliegh, C. A. (1993). 2-18 GHz broadband microwave heating systems. *Microwave Journal*, 36(11), 24–27.
- Lin, S., Brewer, M. S. (2005). Effects of blanching method on the quality characteristics of frozen peas. *J. Food Quality*, 28, 350–360.
- Meek, T. T., Blake, R. D., Petrovic, J. J. (1987). Microwave sintering of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiC whisker composites. *Ceram. Eng. Sci.Proc.*, 8(7-8), 861-871.
- Motallebi, A. (2016). Effect of microwave radiation on seed viability, survival of *Aspergillus niger* L. Van Tieghem and oil quality of oilseeds crops canola, soybean and safflower. *Acta Agriculturae Slovenica*, 107(1), 73 – 80.
- Naeem, A., Saeed, M., Abid, M., Shaukat, S. S. (2013). Effect of UV-B and microwave radiation on seed germination and plant growth in corn and okra. *Fuuast J. Biol.*, 3(1): 55-62.
- Osepchuk, J. M. (1984). A History of microwave heating applications. *Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 32(9), 1200-1224.
- Pucciarelli, A. B., Benassi, F. O. (2005). Inactivation of *Salmonella enteritidis* on raw poultry using microwave heating. *Braz. Arch. Biol. Techn.*, 48(6), 939-945.
- Răcuciu, M., Iftode, C., Miclăuş, S. (2014). 1 GHz low-thermal microwaves effect on mitotic division of vegetal tissues. *International Conference and Exposition on Electrical and Power Engineering*, 16-18 October, Iasi, Romania.
- Ragha, L., Mishra, S. , Ramachandran, V., Bhatia, M. S. (2011). Effects of low-power microwave fields on seed germination and growth rate. *Journal of Electromagnetic Analysis and Applications*, 3, 165-171.
- Sartorato, I., Zanin, G., Baldoin, C., De Zanche, C. (2006). Observations on the potential of microwaves for weed control. *Weed Research*, 46,1-9.
- Schlegel, W. (1992). Commercial pasteurization and sterilization of food products using microwave technology. *Food Technology*, 46(12), 62-63.
- Şahin, H. (2014). Effects of microwaves on the germination of weed seeds. *Journal of Biosystems Engineering*, 39(4), 304-309.
- Taher, B. J. ve Farid, M. M. (2001). Cyclic microwave thawing of frozen meat: experimental and theoretical investigation. *Chem. Eng. Process*, 40, 379-389.
- Thostenson, E. T., Chou, T. W. (1999). Microwave processing: *Fundamentals and applications*. *Composites A.*, 30, 1055-1071.
- Tkalec, M., Malarić, K., Pavlica, M., Pevalek-Kozlina, B., Vidaković-Cifreka, Z. (2009). Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa* L. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672(2), 76-81.
- Tran, V.N. (1979). Effects of microwave energy on the strophiole, seed coat and germination of Acacia seeds. *Functional Plant Biology*, 6(3), 277-287.
- Vadivambal, R., Jayas, D.S. (2007). Changes in quality of microwave-treated agricultural products. *Biosyst. Eng.*, 98, 1-16.
- Vadivambal, R., Deji, O.F., Jayas, D.S., White, N.D.G. (2010). Disinfestation of stored corn using microwave energy. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(1), 18-26.
- Yıldız, K., Alp, A. (1999). Using of microwave in metallurgical processes. *Metalurji TMMOB*, 24(125), 1300-1324.

## ***Nepeta transcaucasica* Grossh. Esansiyel Yağının Bazı Kültür Bitkileri ve Zararlı Otlar Üzerinde Herbisidal Etkisinin İncelenmesi**

**Sinem Karakuş<sup>1\*</sup> Deniz Tiryaki<sup>2</sup> İhsan Aydın<sup>3</sup> Ökkeş Atıcı<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Hakkari Üniversitesi, Çölemerik MYO, Hakkari

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum

<sup>3</sup>Gümüşhane Üniversitesi Şiran Mustafa Beyaz MYO, Gümüşhane

\*e-mail: sinemkarakus@hakkari.edu.tr

Geliş tarihi/Received:02/07/2019

Kabul tarihi/Accepted:25/09/2019

### **Özet**

*Nepeta transcaucasica* Grossh.'dan ekstrakte edilen esansiyel yağın (EY) bazı kültür bitkileri (*Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) ve zararlı otların (*Cynodon dactylon*, *Amaranthus retroflexus*, *Onopordium acanthium*) tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerinde herbisidal etkileri araştırılmıştır. EY, *N. transcaucasica*'dan hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş ve bitkilere ait tohumlar 0, 2, 5, 10 ve 20 µL/L EY konsantrasyonlarında Petri ortamında çimlenmeye maruz bırakılmıştır. Tohumların çimlenme yüzdeleri (günlük) ve fidelerin kök-gövde uzunlukları ile kuru ağırlıkları (6. gün) belirlenmiştir. İlave olarak, çimlenmenin 12., 24. ve 72. saatlerinde tohumların endospermlerinde α-amilaz aktivitesi ölçülmüştür. Çalışmada GC/MS ile analiz edilen *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin, en fazla nepetalakton (%93.75) içerdiği belirlenmiştir. EY, tüm konsantrasyonlarında, zararlı ot tohumlarının çimlenmesini hem geciktirmiş hem de önemli oranda inhibe etmiştir. İnhibisyon derecesi artan EY konsantrasyonuna bağlı olarak yükselmiştir. EY uygulamaları, çimlenen zararlı ot tohumlarında fide kök-gövde uzunlukları ve kuru ağırlık üzerinde de güçlü inhibisyona neden olmuştur. Buna karşılık mısır, arpa ve buğday tohumlarının çimlenmesi EY konsantrasyonları ile hafif inhibe olmuştur. EY uygulamaları, zararlı ot tohumlarının α-amilaz aktivitesi üzerinde, çimlenme yüzdesinde olduğu gibi, güçlü inhibisyon yapamamış ve sadece ilk 24. saatte enzimi önemli oranda inhibe etmiştir. Aynı uygulamalar, arpa ve buğday tohumlarında α-amilaz aktivitesini stimüle ederken, mısırdaki hafif inhibisyona neden olmuştur. Sonuçlarımız, *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin çalışılan zararlı otların tarımsal alanlarda mücadelesinde, doğal bir herbisit olarak kullanılabilme potansiyelini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Amilaz, Fitotoksite, Esansiyel yağ, Çimlenme, Biyoherbisit, Allelopati, *Nepeta transcaucasica*

## **Investigation of Herbicidal Effects of Essential Oil of *Nepeta transcaucasica* Grossh. on Some Cultivated and Weed Plants**

### **Abstract**

The herbicidal effects of essential oil (EO) extracted from *Nepeta transcaucasica* Grossh. were investigated on seed germination and seedling growth of some cultivated plants (*Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) and weeds (*Cynodon dactylon*, *Amaranthus retroflexus*, *Onopordium acanthium*). EO was obtained from *N. transcaucasica* by hydrodistillation and the seeds of the plants were exposed to germination at 0, 2, 5, 10 and 20 µL/L concentrations of the EO in Petri dish. Germination percentage of seeds (daily), the root-stem length and the dry weight of seedlings (day 6) was determined. In addition, α-amylase activity was measured in the endosperm of seeds at 12th, 24th and 72th hours of germination period. In the study, EO of *N. transcaucasica* analyzed by GC/MS was found to contain the most nepetalactone (93.75%). EO, at all concentrations, both delayed and significantly inhibited the germination of weed seeds. The inhibition degree raised depending on the increasing EO concentrations. EO applications also caused a strong inhibition on the root-stem length and dry weight in the germinating weed seeds. In contrast, the germination of corn, barley and wheat seeds was slightly

inhibited by EO concentrations. EY applications did not exhibit a strong inhibition on  $\alpha$ -amylase activity of the weed seeds, like in the percentage of germination, and only significantly inhibited the enzyme in the first 24 hours. The same applications stimulated  $\alpha$ -amylase activity in barley and wheat seeds while decreased slight in maize. Our results show the potential to be used as a natural herbicide of EO from *N. transcaucasica* for the control of weeds in agricultural areas.

**Keywords:** Amylase, Phytotoxicity, Essential oil, Germination, Bioherbicide, Allelopathy, *Nepeta transcaucasica*

## Giriş

Günümüzde dünya nüfus artışına paralel olarak baş gösteren problemlere çözüm yolları arayışı hızlanmıştır. Bu arayışların en önemlilerinden biri de tarım alanlarından maksimum ürün alınımının sağlanabilmesi yönündedir. Buna bağlı olarak da bitkilerde zararlı organizmalara karşı koruyucu özellikteki çeşitli maddelerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak son yıllarda “pestisit ve herbisitler” genel adıyla anılan bu maddelerin bilinçsiz ve kontrolsüzce kullanılmasından doğan olumsuzluklara sıkça rastlanmaktadır (Çalı, 2005). Pestisit veya herbisit kullanımının tartışılmaz yararlarına karşın etkin denetimden yoksun ve aşırı miktarda uygulanması, çevremizi olduğu kadar sağlığımızı, tarım ürünü ihracatımızı ve dolayısı ile ekonomimizi de olumsuz yönde etkilemektedir (Dereboylu ve Tort, 2010). Günümüzde bu sentetik kimyasalların yerini alabilecek, daha güvenli ve bitkilerde doğal olarak üretilen sekonder metabolitler (allelkimyasallar) tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin doğal süreçte biyolojik parçalanmaları kolay olduğu için hem tüketiciler hem de çevre için daha sağlıklıdır. Son yıllarda bitki fizyologları bu tip bileşikleri üreten yabani veya kültür bitkilerini inceleme ve bitkilerdeki bu doğal sekonder bileşikleri elde edip uygulama yollarını araştırmaktadırlar. Bilim insanları tarafından üretilen bu tarzdeki kimyasal bileşiklerin, biyolojik kontrol amacıyla veya organik tarım açısından doğal herbisit, pestisit, fungusit vb. amaç için kullanılmalarını önerilmektedir (Vyvyan, 2002; Singh ve ark., 2003; Weston ve Duke, 2003).

*Nepeta* cinsi (*Lamiaceae*) yaygın olarak Orta ve Güney Avrupa, Güney-Batı, Orta ve Güney Asya'ya yayılan yaklaşık 280 türü içerir (Skaltsa ve ark. 2000; Tzakou ve ark., 2000; Mojaba ve ark., 2009). Türkiye'de 22 endemik tür dahil olmak üzere 44 takson ile temsil edildiğini ortaya koymuştur. Endemik ve endemik olmayan türleri, genellikle Doğu Anadolu ve Toros Dağlarında bulunur (Dirmenci, 2005). *Nepeta* türleri yüksek oranda bir esansiyel yağ olan nepetalacton içermesiyle karakterize edilir ve nepetalakton içeren-içermeyenler olarak iki gruba ayrılırlar. Bununla birlikte, temel esansiyel yağ bileşimi içinde bazı farklı *Nepeta* yağları da tespit edilmiştir. Bir çok çalışmada *Nepeta* uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak nepetalaktonların trans- ve cis-izomerlerinin olduğu bildirilmiştir (Başer ve ark. 2000, Nestorovic ve ark., 2010).

Nepetalakton doğada birkaç izomerik formu bulunan bir monoterpenoittir. *Trans* ve *cis* izomerleri bazı böceklerle karşı oldukça toksiktir ve sivrisinek kovucu özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bunlara ilave olarak *Nepeta* türlerinin güçlü antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu etkinin ana unsuru olarak nepetalaktonun yanı sıra 1,8-Cineol'un da etkiden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (Mothana, 2012). *Nepeta transcaucasica*'nın antibakteriyel ve antikandidal etkisi olduğu önceden yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Öztürk, 2009, İşcan ve ark., 2011). Toplam esansiyel yağ bileşiminin %97.69'unu temsil eden yirmi yedi bileşik tanımlanmış olup 4 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 7 $\alpha$  $\beta$ -nepetalakton (1;% 39), 4 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 7 $\alpha$  $\beta$ -nepetalakton (2;% 28) ve germacren D (3;% 15) ana bileşenlerini oluşturur (İşcan ve ark., 2011). Yapılan

literatür incelemelerine göre, *N. transcaucasica*'nın esansiyel yağ'nın (EY) biyoherbisidal etkisi ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *N. transcaucasica*'a ile yapılan çalışmalar ışığında, bu bitkinin biyoherbisidal etkisinin de olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu yüzden çalışmamızda *N. transcaucasica* esansiyel yağ'nın bazı kültür ve zararlı otların (*Zea mays* cv. Arifiye, *Hordeum vulgare* cv. Afsal, *Triticum aestivum* cv. Doğu-88, *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Amaranthus retroflexus* L., *Onopordium acanthium* L.) tohumların çimlenme, fide büyümesi ve amilaz aktivitesi üzerine etkisi belirlenmiştir.

## Materyal ve Yöntem

### Bitki Materyallerinin Toplanması

*N. transcaucasica* Erzurum Horasan İlçe sınırları içerisinde çeşitli bölgelerden çiçeklenme aşamasında toplanmıştır. Arpa (*Hordeum vulgare* cv. Afsal), buğday (*Triticum aestivum* cv. Dogu-88) ve mısır (*Zea mays* cv. Arifiye) tohumları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilmiştir. Zararlı otların tohumları ise (*Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Amaranthus retroflexus* L., *Onopordium acanthium* L.) Erzurum İli'nde buğday, arpa ve mısır tarım arazilerinden toplanmıştır. Toplanan *N. transcaucasica* ve zararlı otlar Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ata Herbaryumun'da bulunan bitki örnekleri kullanılarak teşhis edilmiştir.



Şekil 1. *N. transcaucasica*'nın Arazi Görüntüsü

### *N. transcaucasica*'nın Esansiyel Yağının Elde Edilmesi ve Analizi

Bitkilerimiz gölgede iyice kurutulup gövde ve çiçek kısımları ayrıldıktan sonra blender yardımıyla parçalanmış ve literatürde yaygın olan yöntemlerle ile esansiyel yağları elde edilmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009, Singh ve ark., 2009, Mutlu ve ark., 2011). Esansiyel yağlarının analizleri GC/MS yöntemiyle yapılmıştır. Bu işlem Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

## ***N. transcaucasica*'nın Esansiyel Yağ Ekstraktlarının Hazırlanması**

Elde edilen EY, %0.1 Tween-20 içeren (v/v) steril saf suda 2, 5, 10 ve 20 µl/L konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Biyolojik deneyler boyunca solüsyonlar +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Mutlu ve ark., 2011).

## **Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi**

Tohumlar, ekimden önce %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dk yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra; 0, 2, 5, 10 ve 20 µl/L konsantrasyonlarda *N. transcaucasica* esansiyel yağı içeren iki tabaka steril filtre kağıdı içeren Petri kaplarına ekilmiştir. Küçük tohumlar için 9 mm büyük tohumlar için 12 mm çapındaki cam Petri kapları kullanılmıştır. Dört tekerrür olacak şekilde her bir Petri kabına 20 tohum ekilmiştir. Tohumların çimlenme kriteri olarak küçük tohumlarda 2.5 mm, büyük tohumlarda 5 mm radikula çıkışı baz alınmıştır. Tohumların her gün çimlenme oranları takip edilmekle birlikte 6. günde tohumların % çimlenme oranları belirlenmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009).

## **Kök ve Gövde Uzunluğu ile Kuru Ağırlık Tayini**

Çimlenmenin 6. günü, fidelerin kök ve gövde uzunlukları milimetrik bir cetvelle ölçülerek ortalama kök ve gövde uzunlukları belirlenmiş ve sonra aynı fideler 72 saat boyunca 60 °C'de etüvde inkübe edilerek fide başına düşen kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009).

## **α-Amilaz Enzim Aktivitesi Tayini**

Çimlenmeyi takiben 24., 48. ve 72. saatlerde tohum endospermleri enzim aktivitesi ölçümünde kullanılmıştır. Bunun için tohumların endospermleri (0.25 gr), %0.1 PVP, 2 mM EDTA ve 1 mM CaCl<sub>2</sub> içeren 50 mM sodyum asetat (pH 6) tamponu içinde +4 °C'de homojenize edilmiş ve sonra homojenat 15 dakika, 12,000xg ve +4 °C'de santrifüjlenmiştir. Hazırlanan bu enzim özütü, 70 °C'de 10 dk ısıtılarak özütteki β-amilaz inaktive edilmiştir. Oluşan berrak süpernatant, α-amilaz aktivitesinin belirlenmesi için her zaman taze olarak hazırlanmıştır. Aktivite ölçümü için 50 µL ham enzim özütü, 10 mM NaCl ve 20 mM CaCl<sub>2</sub> içeren 50 mM sodyum asetatın (pH 6.0) 650 µL'si ve %0.125'lik soluble nişastanın (50 mM sodyum sitrat içinde; pH 6) 500 µL'si ile karıştırıldıktan sonra, 30 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon, karışım üzerine 5 mL iyot/iyodür çözeltisi (% 0.5 I<sub>2</sub> ve % 5 KI) ilave edilerek durdurulmuş ve mavi rengin absorbansı 620 nm'de ölçülmüştür. Kör örnek için aynı işlemde enzim özütü yerine aynı miktar saf su kullanılmıştır (Gupta ve Wagle, 1980). Enzim aktivitesi hesaplanırken, 620 nm'de absorbansta %10'luk bir azalma için gereken enzimin aktivitesi, bir enzim ünitesi (EU)/mL olarak ifade edildi ve bulgular EU/gr doku olarak sunulmuştur.

## **İstatistik Analiz**

Her bir grupta altı tekerrürlü yapılan denemelerden elde edilen verilerin istatistik anlamları SPSS (22.0) paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (one-way

ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi ( $P < 0.05$ ) kullanılarak yorumlanmıştır.

## Bulgular

*N. transcaucasica*'dan hidrodistilasyon yöntemiyle izole edilen esansiyel yağ GC/MS yöntemiyle analiz edilmiştir. İçeriğinde oransal olarak en fazla nepetalakton (%93.75) bulundurduğu belirlenmiştir (Tablo 1). İşcan ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmada EY oranı incelendiğinde de en fazla %69.93 oranında nepetalakton bulundurduğu gösterilmiştir. EY'lerin çalışılan tüm konsantrasyonları (2, 5, 10 ve 20  $\mu\text{L}$ ), *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumlarının çimlenmesini, hem geciktirmiş hem de önemli oranda inhibe etmiştir. Artan EY konsantrasyonuna bağlı olarak inhibisyon derecesi de artmıştır. Örneğin *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumlarının çimlenmesinde 2 ve 5  $\mu\text{L}$  EY ortamında %50'den fazla inhibisyon varken, 10 ve 20  $\mu\text{L}$  EY ortamında çimlenme belirlenmemiştir (tam inhibisyon, Tablo 2). Kök ve gövde büyümesi ve fidelerin kuru ağırlıkları da EY uygulamaları ile azalmış ve konsantrasyon artışıyla düşüş de artmıştır. Örneğin, 5  $\mu\text{L}$  EY uygulamasında *C. dactylon*'un kök ve gövde uzunluğu %20.69 düşmüştür. 10 ve 20  $\mu\text{L}$  EY uygulamaları *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* kök ve gövde büyümesini tamamiyle inhibe etmiştir. Kök ve gövde uzunluğu testlerinin verileri ayrıca çimlenme testlerinden elde edilen bulguları da desteklemektedir (Tablo 2-3-4). Örneğin 10 ve 20  $\mu\text{L}$  EY ortamında *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumlarının çimlenmediği için kök ve gövde uzunluğu ölçülemediği görülmüştür. Buna karşılık EY uygulamaları mısır, arpa ve buğday tohumlarının çimlenmesini kontrollerine göre hafif derecede ( $P > 0.05$ ) düşürmüştür. Çimlenme oranlarındaki bu düşüşler zararlı otlarla kıyaslandığında oldukça önemsiz görülmektedir. Örneğin 20  $\mu\text{L}$  EY ortamında *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumları çimlenmezken, *Z. mays* tohumlarında ancak %4'lük, *H. vulgare* ise %26'lık bir düşüş olmuştur. Aynı fidelerin kök-gövde uzunlukları ve kuru ağırlıkları ise EY'nin yüksek konsantrasyonlarında düşerken, özellikle 2 ve 5  $\mu\text{L}$  EY ortamında her iki parametrede de artışlar belirlenmiştir (Tablo 2-3-4). Örneğin 5  $\mu\text{L}$  EY ortamında *Z. mays* kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık değerleri kontrole göre %10 artmıştır.  $\alpha$ -amilaz aktivitesinden elde edilen bulgular çimlenme, kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık sonuçlarıyla çok fazla uyumlu olmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiştir (Şekil 6 ve 7). Özellikle ilk 24 saatte zararlı otlarda EY uygulaması zararlı otlarda  $\alpha$ -amilaz aktivitesini inhibe etmiştir. Ancak 24. ve 72. saatlerde  $\alpha$ -amilaz aktivitesinde anlamlı bir inhibisyon belirlenmemiştir. Aynı uygulamalar, arpa ve buğday tohumlarında  $\alpha$ -amilaz aktivitesini stimüle ederken, mısırdaki hafif ( $P > 0.05$ ) inhibisyonlara neden olmuştur.

Tablo 1. *N. transcaucasica*'nın esansiyel yağ içeriği

Bileşik adı	RT	Oran (%)
Nepetalactone	31.31	93.75
Caryophyllene Oxide	38.67	1.30
Diğer		4.95

Tablo 2. *N. transcaucasica* esansiyel yağının bazı bitki tohumlarının çimlenmesi (%) üzerine etkileri

	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	78 ± 0.6 <sup>b</sup>	80 ± 1.1 <sup>b</sup>	86 ± 0.6 <sup>a</sup>	78 ± 0.6 <sup>b</sup>	75 ± 0.6 <sup>c</sup>
<i>H. vulgare</i>	76 ± 0.6 <sup>b</sup>	77 ± 0.1 <sup>a</sup>	76 ± 0.6 <sup>b</sup>	68 ± 0.6 <sup>c</sup>	56 ± 0.2 <sup>d</sup>
<i>T. aestivum</i>	85 ± 0.2 <sup>b</sup>	86 ± 0.6 <sup>ab</sup>	87 ± 0.1 <sup>a</sup>	73 ± 0.2 <sup>c</sup>	35 ± 1.1 <sup>d</sup>
<i>C. dactylon</i>	89 ± 0.6 <sup>a</sup>	80 ± 0.6 <sup>b</sup>	75 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	89 ± 0.1 <sup>a</sup>	40 ± 0.6 <sup>b</sup>	35 ± 0.3 <sup>c</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	64 ± 1.1 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p&lt;0.00).

Tablo 3. *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bitki tohumlarının kök uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri

	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	4.9 ± 0.02 <sup>c</sup>	6.4 ± 0.06 <sup>b</sup>	8.0 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.03 <sup>d</sup>	3.5 ± 0.1 <sup>e</sup>
<i>H. vulgare</i>	7.3 ± 0.01 <sup>ab</sup>	8.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	6.0 ± 0.02 <sup>bc</sup>	5.4 ± 0.03 <sup>c</sup>	5.0 ± 0.06 <sup>d</sup>
<i>T. aestivum</i>	5.1 ± 0.03 <sup>c</sup>	6.3 ± 0.06 <sup>b</sup>	7.3 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.6 ± 0.02 <sup>d</sup>	3.4 ± 0.03 <sup>e</sup>
<i>C. dactylon</i>	2.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.3 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	3.6 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	2.6 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p&lt;0.00).

Tablo 4. *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bitki tohumlarının gövde uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri

	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	3.2 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.9 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.8 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.03 <sup>d</sup>	1.5 ± 0.01 <sup>e</sup>
<i>H. vulgare</i>	4.7 ± 0.02 <sup>c</sup>	8.7 ± 0.06 <sup>a</sup>	6.9 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.06 <sup>d</sup>	2.1 ± 0.06 <sup>e</sup>
<i>T. aestivum</i>	9.2 ± 0.02 <sup>b</sup>	9.0 ± 0.03 <sup>a</sup>	6.8 ± 0.03 <sup>c</sup>	3.9 ± 0.02 <sup>d</sup>	2.1 ± 0.11 <sup>e</sup>
<i>C. dactylon</i>	2.0 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	3.4 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.9 ± .01 <sup>c</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	2.1 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

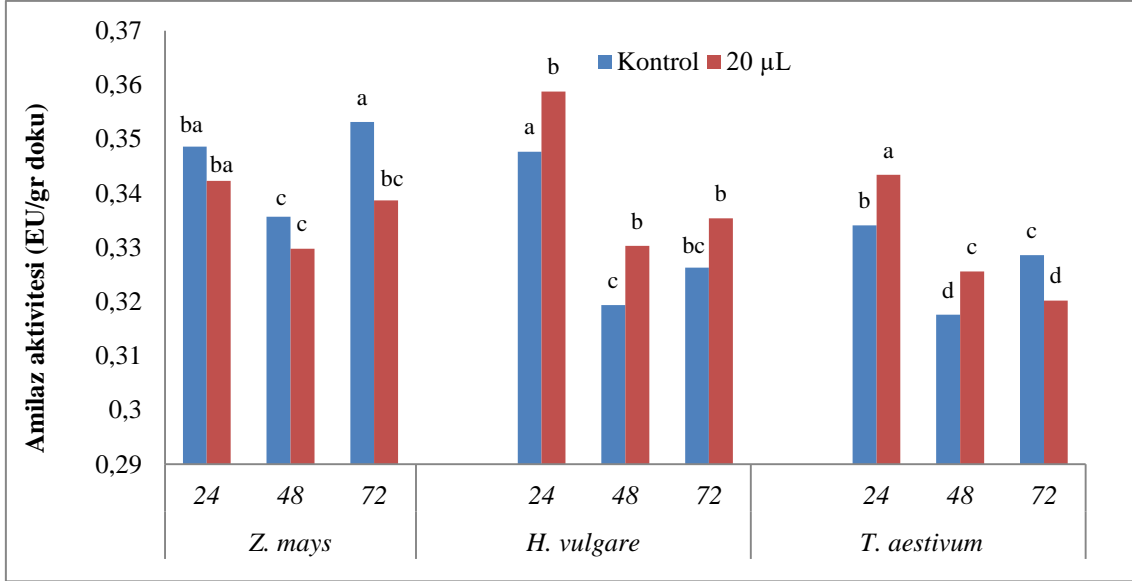
Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p&lt;0.00).

Tablo 5. *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bitki tohumlarının fide kuru ağırlığı (gr/bitki) üzerine etkileri

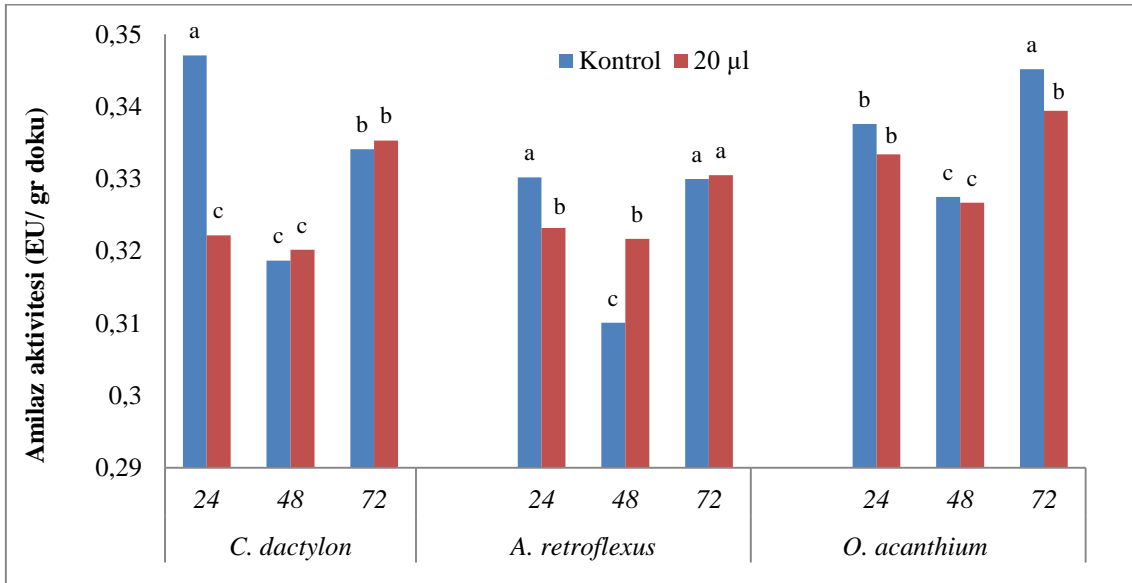
	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	0.52 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.4 ± 0.01 <sup>d</sup>
<i>H. vulgare</i>	0.52 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.6 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>e</sup>
<i>T. aestivum</i>	0.42 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>d</sup>	0.28 ± 0.01 <sup>d</sup>
<i>C. dactylon</i>	0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	0.26 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p&lt;0.00).





Şekil 2. Farklı Konsantrasyonlarda *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bazı kültür bitki tohumlarının  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerine etkisi. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ( $p<0.00$ ).



Şekil 3. Farklı Konsantrasyonlarda *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bazı zararlı ot tohumlarının  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerine etkisi. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ( $p<0.00$ ).

## Tartışma ve Sonuç

Son elli yıldan beri sentetik kimyasalların tarımsal uygulamalarda yoğun kullanılması, çevre ve insan sağlığı açısından telafisi çok zor sorunlara neden olmaktadır. Bu nedenle günümüzde çevreye dost ve insan sağlığı için daha düşük riskler oluşturan biyolojik kaynaklı organik kimyasalların araştırılması ve kullanılması yaygınlaşmaktadır (Daferera ve ark., 2002, Weston ve Duke, 2003). Bunlar içerisinde en önemli yaklaşımlardan biri, bitki sekonder metabolitleri olarak değerlendirilen allelokimyasallardır. Bu bileşiklerin biyopestisit veya biyoherbisit amaçlı etkilerinin

yanında doğada biyobozunurlukları çok hızlı ve toksisiteleri oldukça düşüktür. Bu kapsamda mevcut çalışmada *Nepeta transcaucasica*'dan elde edilen esansiyel yağın (EY) bazı tarımsal bitkiler (*Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) ve bu bitkilerin ekildikleri alanlarda yaygın olan zararlı otlar (*Cynodon dactylon*, *Amaranthus retroflexus*, *Onopordium acanthium*) üzerinde biyoherbisidal etkisi araştırılmıştır. Erzurum Horasan İlçe sınırları içerisinde toplanan *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin içeriği incelendiğinde (Tablo 1), en yüksek oranda (%93.75) nepetalakton olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak bazı çalışmalarda da *Nepeta* türlerinin EY'lerinde en fazla *trans*- ve *cis*- nepetalakton izomerleri taşıdığı belirlenmiştir. Örneğin Ağrı Doğubayazıt'ta toplanan *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY incelendiğinde de en fazla %69.93 oranında nepetalakton bulundurduğu gösterilmiştir (İşcan ve ark. 2011). Monoterpenler çoğunlukla lipofiliktir ve hücre membranlarının akışkanlığını artırır, membran yapısını tahrip eder ve metabolizmada önemli enzimlerin aktivitelerini inhibe ederler (Sikkema ve ark. 1995, Inderjit ve Callaway, 2003; Turina ve Perillo, 2003). Bu nedenle, yapılan çalışmada EY'nin herbisit etkisi, bu faktörlerin bir veya daha fazlası üzerindeki etkisine dayandırılabilir. *N. transcaucasica*'nın belirlenen biyoherbisidal etkisi en yüksek oranda içerdiği nepetalaktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada çimlenme deneylerinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY, zararlı otlardan *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* bitkilerinin tohum çimlenmesi ve fide büyümesini önemli seviyede inhibe etmiştir (Tablo 2, 3, 4). Hatta *A. retroflexus* ve *O. acanthium* otlarının tohum çimlenmesi 2 µl /L EY uygulamasında sırasıyla %60 ve %100 inhibe olmuştur. EY konsantrasyon artışıyla çimlenme inhibisyonu daha da yükselmiş ve 10 µl /L EY uygulamalarında tüm zararlı otların çimlenmeleri %100 inhibe olmuştur. Çimlenen bu tohumların kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık verileri çimlenme verileriyle örtüşmektedir. Bu bulgulara göre *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY çalışılan zararlı otların çimlenmesini ve fide büyümesini (kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlığı) inhibe ederek güçlü biyoherbisidal etki göstermiştir. Birçok çalışmada monoterpenlerden zengin olan esansiyel yağların, yabancı otların çimlenmesi üzerinde güçlü inhibe edici etkilere sahip olduğu bildirmiştir (Abraham ve ark. 2000, Angelini ve ark. 2003, Singh ve ark. 2004, Zunino ve Zygadlo, 2004, Kordali ve ark., 2007). Çalışmamızda aynı EY uygulamaları kültür bitkilerinin (*Z. mays*, *H. vulgare* ve *T. aestivum*) çimlenme ve fide büyümeleri üzerinde önemli bir inhibisyon göstermemiştir (Tablo 2, 3, 4). Hatta 10 µl /L EY uygulamasında zararlı otların çimlenmeleri %100 inhibe olurken, çalışılan kültür bitkilerinde ise çimlenme aynı uygulama ile ancak %25-30 oranında inhibe olmuştur. Bu davranış bir herbisit için çok istenen ve önemli seçici bir özelliktir. Çünkü tarla şartlarında uygulanan herbisitlerden kültür bitkileri üzerinde değil zararlı otlar üzerinde etkili olmaları genel beklenen bir özelliktir. Yapılan çalışmada ayrıca *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin zararlı otların gelişimini inhibe edici etkisi gözlenirken, kültür bitkilerinde gövde uzaması ve kuru ağırlık üzerinde iyileştirici etkisi bulunmuştur. Bazı bitkilerden elde edilen allelokimyasalların tarımsal bitkilerde tohum çimlenmesi üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmazken, aynı bitkilerin büyüme ve gelişmesini artırabildikleri ileri sürülmüştür (Macias ve ark., 1999). Benzer olarak Mutlu ve Atıcı (2009) yaptıkları çalışmada, *N. meyeri* bitkisinden elde ettikleri EY'nin, kültür bitkilerinin kök uzamasını uyardığını, yabancı otların ise inhibe ettiğini bulmuştur.

Çalışmamızda zararlı otlar üzerinde biyoherbisidal etkisi belirlenen EY'nin, tohumlarda çimlenmenin stimülasyonu ve endospermdeki yedek besinlerin embriyoya mobilizasyonunda önemli rol oynayan  $\alpha$ -amilazın aktivitesi üzerindeki etkisi de

belirlenmek istenmiştir. Bulgulara göre *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY, zararlı ot tohumlarının çimlenme sürecinde  $\alpha$ -amilazın aktivitesini önemli oranda inhibe edemediği belirlenmiştir. EY'nin inhibisyon etkisi özellikle çimlenmenin ilk 24. saatinde belirgindir. Ancak, çalışılan diğer saatlerde ise EY'nin bu etkisi çok açık olmadığı görülmektedir. Bu nedenle EY'nin zararlı otların çimlenmelerini engelleme etkisi, amilaz aktivitesi dışında giberellin sentezi, amilazın transkripsiyonu veya diğer metabolik yollar üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Muhtemelen DNA sentezinin inhibisyonu, mitokondri gibi bazı organellerin metabolik işlevlerinde düşüş veya mitokondri ve çekirdeği çevreleyen zarların bozulmasından da kaynaklanmaktadır (Zunino ve Zygadlo, 2004, Nishida ve ark., 2005, Kordali ve ark., 2007). Ancak çalışmamızda EY uygulaması, özellikle arpa ve buğday tohumlarında amilaz aktivitesini düşürmemiş ve hatta çimlenmenin ilk 24 saatinde aktiviteyi artırdığı belirlenmiştir (Şekil 2). Bu bitkilerin amilaz aktivitesi verileri çimlenme bulgularıyla örtüşmektedir. Bulgularımız EY'nin zararlı ot tohumları üzerinde çimlenme inhibisyonu etkisini, kısmen amilaz aktivitesi üzerinde olsa da, daha çok diğer metabolik yollar üzerinde gerçekleştirdiğini göstermektedir. Bir allelokimyasal bir bitki türüne olumsuz, bir diğerine ise olumlu etki gösterebilir.

Sonuçta çalışma, *N. transcaucasica* esansiyel yağı içinde çalışılan zararlı otlar için biyoherbisidal bileşiklerin bulunduğunu ve bu allelokimyasalların yabancı otların kontrolünde kullanılabilme potansiyelinin olduğu göstermiştir. Buna karşılık aynı EY çalışılan kültür bitkileri üzerinde anlamlı biyoherbisidal etki göstermemiştir. Bu durum, *N. transcaucasica* esansiyel yağın kültür bitkilerindeki diğer kimyasallarla olumlu etkileşme göstermesinden kaynaklanabilir. Gelecek çalışmalarda bu olumlu etkinin nedenleri daha ayrıntılı bir şekilde çalışılacaktır. Bu çalışmada ilk defa *N. transcaucasica* esansiyel yağının allelopantik etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

## Kaynaklar

- Abraham, D., Braguini, W. L., Kelmer-Bracht, A. M., Ishii-Iwamoto, E.L. (2000). Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 611-624.
- Angelini, L.G., Carpanese, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Macchia, M. and Flamini, G. (2003). Essential oils from mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6158-6164.
- Başer, K. H. C., Kırimer N., Kürkçüoğlu M., Demirci B. (2000). Essential oils of *Nepeta* species growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(4), 356.
- Çalı, İ. Ö. (2005). Cyprodinil uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) polenin morfolojisi ve fertilitesi üzerine etkileri, *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 26(1), 26-34.
- Daferera, D. J., Basil, N. Z., Polissiou, M. G. (2002). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* sub sp. *Michiganensis*. *Crop Protection*, (22), 39-44.
- Dereboylu, A. E., Tort, N. (2010). Bazı aktivator ve fungusit uygulamalarının *Cucumis sativus* L. (hıyar) bitkisinde verim-kalite üzerine etkisi. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(1), 30-42.
- Dirmenci, T. 2005. A new subspecies of *Nepeta* (Lamiaceae) from Turkey. *Bot J Linn Soc*, 147, 229–233. doi:10.1111/j.1095-8339.2005.00355.

- Gupta, K, Wagle, D. S. (1980). Changes in antinutritional factors during germination in *Phaseolus mungoreous*, and *Phaseolus aureus* (T<sub>1</sub>). *J Food Sci*, 45, 395–397.
- Inderjit Callaway, R. S. (2003). Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant and Soil* 256, 1-11.
- İşcan, G., Bülent Köse, Y., Demirci, B., Hüsnü Can Başer, K. (2011). Anticandidal activity of the essential oil of *Nepeta transcaucasica* Grossh. *Chemistry & Biodiversity*, 8, 2144-2148.
- Kordali, S., Cakir, A. and Sutay, S. (2007). Inhibitory effects of monoterpenes on seed germination and seedling growth. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-A Journal Of Biosciences*, 62, 207-214.
- Macias, F. A., Oliva, R. M., Varela, M., Torres, A. and Molinillo, M. G. (1999). Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick. *Phytochemistry* 52, 613-621.
- Mojaba, F., Nickavara, B., Tehrania, H. H. (2009). Essential oil analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 43-46.
- Mothana, R. A. (2012). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of nepeta deflersiana growing in Yemen. *Records of naturel products*,6(2), 189-193.
- Mutlu, S. Atıcı, Ö. (2009). Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 89-93.
- Mutlu, S. Atıcı, Ö., Esim, N., Mete, E. (2011). Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species. *Acta Physiologiae Plantarum*,33(3), 943-951.
- Nestorovic, J., Mistic, D., Siler, B., Sokovic, M., Glamoclija, J., Ciric, A., Maksimovic, V., Grubisic D. (2010). Nepetalactone content in shoot cultures of three endemic *Nepeta* species and the evaluation of their antimicrobial activity. *Fitoterapia*, 81 (6), 621-626.
- Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C., Sakai, A. (2005). Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 1187- 1203.
- Öztürk, A. (2009). In vitro Antibacterial activities of *Nepeta transcaucasica*. *Asian Journal of Chemistry*, 21(8), 6440-6444.
- Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Loukis, A. E., Constantinidis, T. (2000). Essential oil analysis of *Nepeta argolica* Bory & Chaub. subsp. *argolica* (Lamiaceae) growing wild in Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 15, 96-99.
- Sikkema, J. J., De Bont, A. M., Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59, 201-222.
- Singh, H. P., Batish D. R., Kohli R. K. (2003). Allelopathic interactions and allelochemicals. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 239-311.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kaur, S., Vaid, S., Kohli, R. (2004). Weed suppressing ability of some monoterpenes. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 111, 821-828.
- Singh, H. P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D. R., Kohli, R. K. (2009). Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 154-162.

- Tzakou, O., Harvala, C., Galati, E. M., Sanogo, R. (2000). Essential oil composition of *Nepeta argolica* Bory et Chaub. subsp. *argolica*. *Flavour and Fragrance Journal*, 15, 115-118.
- Turina, A. V., Perillo, M. A. (2003). Monoterpenes affect chlorodiazepoxide- micelle interaction through micellar dipole potential modifications. *Biochimica et Biophysica Acta* 16, 112-120.
- Vyvyan, J. R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, 58, 1631-1646.
- Weston, A. L. Duke S. O. (2003). Weed and crop allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 367-389.
- Zunino, M. P., Zygadlo, J. A. (2004). Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta*, 219, 303-309.

## Gürpınar (Van) İlçesi Sınırları İçerisinde Bulunan, Şamran Kanalı Üzerinde Kurulmuş, Şifa Gökkuşuğu Alabalık Çiftliği'nin, Kanalın Su Kalitesi Üzerine Etkileri

İbrahim Koç<sup>1\*</sup> Erdal Ögün<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bitlis Eren Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Bitlis

<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Van

\*e-mail: ibrahimkoc47@gmail.com

Geliş tarihi/Received:29/08/2019

Kabul tarihi/Accepted:25/09/2019

### Özet

Bu araştırmada, Şifa Alabalık Çiftliği'nin, Şamran Kanalının, su kalitesi üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla; Nisan 2006 ve Mayıs 2007 tarihleri arasında çiftliğin giriş ve çıkış noktalarından mevsimsel olarak alınan, toplam 26 su numunesinin bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri belirlendi. Bütün su numunelerindeki, toplam heterotrofik bakteri, toplam koliform bakteri, fekal koliform bakteri sayıları, pH değerleri ve sıcaklık değerleri belirlendi. Şamran kanalının kaynağından alınan su numuneleri ile, tesisin giriş ve çıkış noktalarındaki, su sıcaklığı ve pH'ın ortalama değerleri, sırasıyla; 9°C, 10.40°C, 10.49°C ve 6.88, 7.22 ve 7.47 olduğu tespit edildi. Farklı sıcaklık aralıklarında (5°C, 27°C ve 35°C), heterotrofik bakteri sayısı tesisin giriş ve çıkışından noktalarından alınan numunelerde;  $8.8 \times 10^3$ - $26 \times 10^3$  kob/100 ml,  $4.1 \times 10^5$ - $11.9 \times 10^5$  kob/100 ml ve  $4.3 \times 10^4$ - $80 \times 10^4$  kob/100 ml olduğu belirlendi. Su numunelerindeki toplam koliform sayısının 102-576 kob/100 ml arasında değiştiği belirlenirken, fekal koliform sayısının 184-604 kob/100 ml arasında değiştiği, tespit edildi. Yapılan araştırmalar sonucunda; Şamran kanalı üzerine bulunan, Şifa Alabalık çiftliğinin, kanal suyun mikrobiyolojik kalitesini olumsuz yönde etkilediği tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Alabalık çiftliği, Mikrobiyolojik su kalitesi, Şamran kanalı

### The Effects of the Healing Rainbow Trout Farm on the Water Quality of the Channel, which is Located on the Şamran Channel, Located within the Boundaries of Gürpınar (Van) District

#### Abstract

In this study, the effects of Şifa Trout Farm, Şamran Channel on water quality were investigated. For this purpose; Between April 2006 and May 2007, some microbiological and physicochemical properties of a total of 26 water samples taken seasonally from the entry and exit points of the farm were determined. Total heterotrophic bacteria, total coliform bacteria, fecal coliform bacteria numbers, pH values and temperature values were determined in all water samples. In the water samples taken from the source of the Şamran channel, the mean values of water temperature and pH at the entry and exit points of the plant are as follows; 9°C, 10.40°C, 10.49°C and 6.88, 7.22 and 7.47. At different temperature ranges (5°C, 27°C and 35°C), the number of heterotrophic bacteria was determined in samples taken from the points of entry and exit of the plant;  $8.8 \times 10^3$ - $26 \times 10^3$  cfu / 100 ml,  $4.1 \times 10^5$ - $11.9 \times 10^5$  cfu / 100 ml, and  $4.3 \times 10^4$ - $80 \times 10^4$  cfu / 100 ml. The total coliform count of water samples was determined between 102-576 cfu / 100 ml, while the fecal coliform number ranged between 184-604 cfu / 100 ml. As a result of the researches; It was found that Şifa Trout farm on Şamran channel had a negative effect on microbiological quality of canal water.

**Keywords:** Trout farm, Microbiological water quality, Şamran channel

## Giriş

Su, bütün yaşam formlarının, canlılığını sürdürebilmesi için vazgeçilmez bir nesnedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Su, özellikle son yıllarda küresel iklim değişikliğinin de etkisiyle tehlikeli bir şekilde azalmaya başlamış önemli bir kaynaktır. Dünyanın artan nüfusu gibi çok sayıda etken sebebi ile suya olan ihtiyacı sürekli artırmaktadır (Yılmaz ve Peker, 2013). Ülkemiz, su zengini bir ülke olmayıp, var olan kaynaklarımız, yanlış ve bilinçsiz kullanımlardan ötürü yok olmakta ve kirletilmektedir (Volkan ve Boz, 2006).

“Su kirliliği; su kaynağının kimyasal, fiziksel, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılmasını” (Anonim, 2019a) içine alan bir kavramdır. Su kaynaklarının, mikrobiyolojik kalitesinin ortaya konmasında, patojen mikroorganizmalar yerine, indikatör mikroorganizmalar kullanılır. Çünkü patojen mikroorganizmaların tespit edilmesi hem zaman alıcı hem de külfetli bir süreçtir. Bir su kaynağında, indikatör mikroorganizmaların tespit edilmesi, o su kaynağında patojenlerin varlığını zaten işaret eder. İndikatör mikroorganizma olarak heterotrofik bakteriler, koliformlar ve enterokoklar kullanılır. Heterotrofik bakteriler, genel indikatör olarak kullanılırlar. Koliform grubu bakteriler, en genel karakteri, laktoz şekerini gaz oluşturmak suretiyle kullanılmalarıdır. Bu grup, toplam ve fekal olmak üzere iki gruba ayrılır. Toplam koliformlar çevre orijinli iken, fekal koliformlar ve enterokoklar sıcakkanlı omurgalıların bağırsak sistemine ait bakterilerdir (Gerba, 2009). Toplam koliformlar laktoz şekerini 35°C’de kullanırken, fekal koliformlar termotolerant bakteriler olup laktoz şekerini 44°C’de kullanırlar (Shaheduzzaman ve ark., 2016). Koliform grubu bakteriler olarak bilinen *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Citrobacter freundii* türleri Enterobacteriaceae içerisinde bulunan türlerdir (Çakır, 2000).

Su numunelerindeki, heterotrofik bakterilerin sayımı, seyreltme plaka yöntemi veya dökme plaka yöntemi ile belirlenir. Koliform bakterilerin sayımı için En Muhtemel Sayı Yöntemi, Membran Filtre Yöntemi ve Var/Yok yöntemi kullanılarak belirlenir (Anonim, 1995). Mikroorganizmaların çoğalma ve yayılışlarında, sıcaklık ve pH önemli parametreler olup, mikrobiyal hücreler içerisinde oluşan bütün metabolik olayları, enzimler ve enzimlerin faaliyetlerini de sıcaklık ve pH etkilemektedir (Öner, 1987). Alabalık üretimi için kullanılan suların, I. Kalite kıtaçi su sınıfına girmesi gerekir. Başka bir deyişle, bu suların alınacak numunelerin, sıcaklık değerinin  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ , pH aralığının 6.5-8.5 aralığında, membran filtre yöntemi ile sayımı yapıldığında 100 ml’de, fekal koliform oranının  $\leq 10$  ve toplam koliform oranının  $\leq 100$  olması tavsiye edilir (Anonim, 2019b). Balık çiftliklerinin su kalitesi, araştırmacılar tarafından araştırılmıştır. Son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliğinin (özellikle kafeslerdeki balık yetiştiriciliği), su ortamındaki olumsuz potansiyel etkileri tartışılmaya başlanmıştır. Yıldırım ve Korkut (2004), balık çiftliklerinde kullanılan yemlerde fosfor (%0.9-1.5) ile azotun (%7-8) bulunduğunu ve kirliliğe yol açan etmenlerin azot, fosfor, organik maddeler ve suda asılı katı maddeler olduğunu ifade etmiştir. Atasoy ve Şeneş (2004), Atatürk baraj gölünde alabalık üreticiliği ile oluşan kirlilik üzerine yaptıkları araştırmada; su kalite parametrelerinden pH, toplam fosfor, amonyak, nitrit ve kısmen

de olsa nitrat seviyelerinin ortamın, kirlilik yükünü artırıcı yönde, etki gösterdiğini saptamışlardır. Bir başka çalışmada, Balıklıgöl'de yapılan mevsimsel araştırmada, su numunelerinin, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, kirlilik parametrelerinin standartlarına uygun olduğu tespit edilmiştir (Dişli ve ark., 2003; 2004). Diler ve ark. (2000), Baysal ve Özpekler gökkuşağı alabalığı işletmelerinin, havuz giriş ve çıkışlarından aldıkları su numunelerinde; *Aeromonas*, *Micrococcus*, *Coryneform* grup, *Staphylococcus* sp., *Moraxella* sp., *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp., Enterobacteriaceae ve *Acitenobacter* sp. bakteri tespitinde bulunmuşlardır. Ayrıca, Baysal ve Özpekler havuzlarının giriş ve çıkışında sırasıyla  $10^3$ - $10^5$ / $10^3$ - $10^7$  ve  $10^2$ - $10^5$ / $10^3$ - $10^6$  kob/ml bakteri saymışlardır. Timur ve Timur (2003), balıklarda hastalık oluşturan türlerin Vibrionaceae, Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae, Pseudomonaceae, Cytophagaceae, endospor oluşturmeyen gram pozitif çomaklar, gram pozitif koklar, Mycobacteriaceae ve Nocardioform familyaları içerisinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Kafes kültüründeki balık çiftliklerinde yapılan araştırmada balık faaliyetlerinden dolayı kafes ve civarında oksijen miktarında azalma ve plankton sayısında bir artışın olduğu tespit edilmiştir (Cornel ve Whoriskey, 1992). Acar ve ark. (2002), laboratuvar şartlarında akvaryumda tuttukları *Tinca tinca* (L., 1758) ve *Alburnus escherichi* (S., 1987) balık türlerinin beş ayrı akvaryumdaki koliform oranlarını belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmalarının sonucunda; ilk hafta için dört akvaryumdaki toplam koliform oranının oldukça yüksek olduğunu bulmuşlardır. Terzi (2006), üç alabalık çiftliğinde mikrobiyolojik yönden yaptığı incelemede; alabalık, yem ve suların hijyen kalitesinin düşük olduğunu, *E. coli* gibi patojen mikroorganizmaları içermesinden ötürü halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğinden dolayı işletmelerin düzenli olarak denetimlerinin yapılması gerektiğini bildirmiştir. Bulut ve Akçimen (2015), Karamusa Deresi üzerine kurulu gökkuşağı alabalığı işletmesinin dereye fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik etkileri belirleme üzerine yaptıkları araştırma sonucunda; su sıcaklığı ile pH'ın kabul edilebilir düzeylerde olduğunu, mikrobiyolojik parametrelerden *E. coli* tespit edilmezken, toplam koliform ve toplam bakteri değerlerinin her iki noktada da zaman zaman artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çarbaş ve ark. (2008), Erzurum'da gökkuşağı alabalığı yetiştiren altı farklı ticari işletmede hastalık riskinin bulunduğunu, özellikle fekal kontaminasyonunun önemli düzeyde olduğunu ve bu sebepten ötürü işletmelerin hijyen ve teknolojik kurallara riayet edilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir. Macedo ve ark. (2011), havanın kuru ve yağmurlu olduğu iki ayrı sezonda balık çiftliklerindeki bazı bakteri gruplarına etkilerini incelemişlerdir. Özellikle yağışlı dönemde koliform ile heterotrofik bakteri sayısında artışın olduğunu ve bu artışı drenaj suları ve yüksek sıcaklığın pozitif yönde etkilediğini saptamışlardır. Valenzuela-Armenta ve ark. (2018), çalışmalarında 29 Tilapia balık çiftliği su örneklerinde total ve fekal koliform, mezofilik aerobik bakteri, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp. ve *Streptococcus* sp.'yi araştırmışlardır. Genel olarak elde ettikleri bulguların Meksika düzenlemelerine uygun olduğunu, ancak Tilapia balığının mikrobiyolojik kalitesinin sürekli izlenmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Vasile ve ark. (2017), Iaşi (Romanya)'de iki balık çiftliği suyunun kalitesini araştırmışlardır. Ortalama su sıcaklığının 20.44-22.08°C arasında değiştiğini; pH değerinin alkali (>8.50) olduğunu; ortalama mezofilik bakteri sayısının kaynağa göre daha çok olduğunu; tüm su örneklerinde koliform bakterilerin var olduğunu ve sayılarının 16.500 ile 75.000 kob mL<sup>-100</sup> arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Romanya kültür balıkçılığı mevzuatına göre, göletlerin su kalitesinin III. kalite sınıfına dâhil edilebileceğini ifade etmişlerdir. Njoku ve ark. (2015), Nijer deltasında bulunan bazı beton ve toprak balık havuzlarındaki araştırmaları sonucunda;

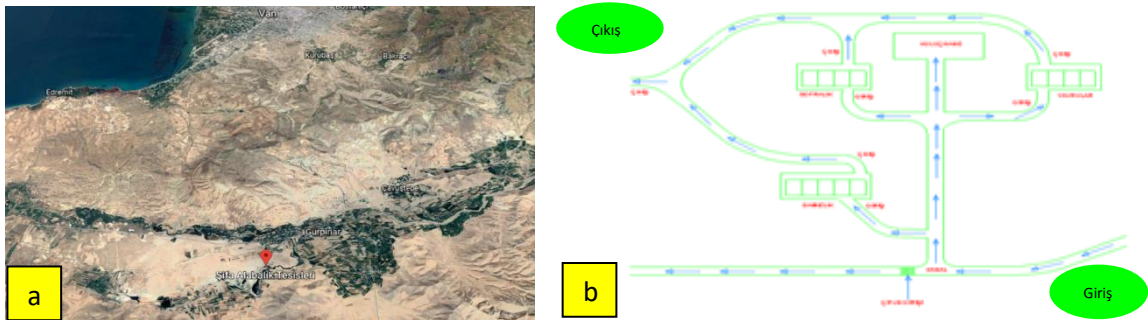


*Escherichia coli*, *Staphylococcus* sp., *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp., *Salmonella* sp., *Vibrio* sp., *Serratia* sp., *Shigella* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp. ve *Enterobacter* türlerini saptamışlardır. Ayrıca bu göletlerin insan sağlığı için risk oluşturan patojenik mikroorganizmalar ile büyük ölçüde kontamine olduğunu ve dolayısıyla halk sağlığı konusunda endişe duyduklarını ortaya koymuşlardır. Ajayi ve Okoh (2014), araştırma yaptıkları su örneklerinin pH değerinin 7.82 ile 8.15 ve sıcaklığın ise 27-31°C arasında değiştiğini saptamışlardır. Örneklerden *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp. gibi bakteri izolatları tespit etmişlerdir. Zaccone ve ark. (2005), çalışmalarında sıcak mevsimde heterotrofik bakterilerin sayılarının önemli derecede artış gösterdiğini bulmuşlardır.

Menua (Şamram) kanalı, Urartu dönemine ait sulama kanallarının önemlilerinden biridir. Bu kanal Gürpınar ovasından doğup, Van Ovasını sulayan 51 km uzunluğunda bir kanaldır. Şamran Kanalı, inşa edildiği tarihten itibaren, günümüze kadar kesintisiz olarak 5000 hektardan fazla tarım arazisinin su ihtiyacını karşılamaktadır (Belli, 1999). Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), dünyada ve ülkemizde, kültür balıkçılığında, yaygın olarak kullanılan, bir alabalık türüdür (Yıldız, 2019). Bu çalışmada, Şifa Alabalık Çiftliğinin, Şamran kanalının su kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Bu araştırma; mevsimsel olarak 2006-2007 yılları arasında gerçekleştirildi. Araştırma alanı olarak seçilen, Şifa Gökkuşluğu Alabalığı Çiftliği (Şekil 1), Van ilinin Gürpınar ilçesine yaklaşık 5 km uzaklıkta ve Şamran kanalı üzerinde, kurulmuş, bir tesisdir. Su numuneleri, Şamran Kanalı'nın, ana kaynağından, çiftliğin giriş ve çıkış noktalarından alındı. Mevsimsel olarak alınan toplam 26 adet su numunesi, heterotrofik bakteri sayısı, koliform bakteri sayısı, sıcaklık değerleri ve pH değerleri açısından analiz edildi.



Şekil 1. a) Şifa Alabalık Tesisi harita görüntüsü (Anonim, 2019c) ve b) Numune alınan noktalar.

Su numunelerinin sıcaklık değerleri; termometre yardımı ile örnekleme yapıldığı anda yerinde belirlenirken, pH değerleri, laboratuvarında dijital pH metre (İnolab wtw) kullanılarak ölçüldü. Numunelerdeki, farklı sıcaklık aralıklarında (5°C, 27°C ve 35°C) üreyen toplam heterotrofik bakteri sayısı, Plate Count Agar (PCA) ortamı kullanılarak seyreltme plaka yöntemi ile tespit edildi. Numunelerdeki koliform grubu bakterin oranları, En Muhtemel Sayı Yöntemi (EMS) ile belirlendi. Bu amaçla; muhtemel koliform belirlenmesi için, içerisine Durham tüpleri yerleştirilmiş Lauryl Sulfat Broth

(LST) tüp serisine su numunelerinden ekim yapıldı. LST broth tüplerinde gaz oluşu, muhtemel koliformlar açısından pozitif olarak değerlendirildi. Toplam koliformların doğrulanması için Brilliant Green Bile Broth (BGL) tüplerine ve fekal koliformların doğrulanması için, EC Broth tüplerine platin öze ile ekim yapıldı. BGL tüpleri 35°C'de ve EC broth tüpleri 44°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu müteakip pozitif tüp sayılarının karşılığı EMS tablosunda bulunarak 100 ml'deki koliform sayısı belirlendi (Gürgün ve Halkman, 1988; Anonim, 1995).

Bu çalışmanın verilerin istatistiksel fark analizlerinde; iki grup için t-testi, ikiden fazla grup için Anova testi kullanılmış olup, analizler SPSS paket programı I. tip hata oranı  $\alpha=0.05$  olarak kabul edilmiştir.

## Bulgular ve Tartışma

### Su Numunelerinin Sıcaklık ve pH Değerleri ile İlgili Bulgular

Çiftliğin giriş ve çıkış noktalarındaki, ortalama su sıcaklığı ve pH değerleri sırasıyla, 10.40-10.49°C ve 7.22-7.47 arasında değiştiği belirlendi (Tablo 1). Elde edilen verilere yapılan t-testine göre çiftlik sıcaklık bakımından giriş ve çıkışlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı ( $p=0.916>0.05$ ), fakat pH değerleri bakımından ise anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ( $p=0.000<0.05$ ).

**Tablo 1.** Şifa alabalık çiftliğinin giriş ve çıkış noktalarında, su sıcaklığı ve pH değerleri

Örnekleme tarihi ve saati	Sıcaklık değeri (°C)		pH değeri	
	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış
08.04.2006 – 14.00	10.20	10.20	7.07	7.56
22.04.2006 – 11.40	10.50	10.50	7.00	7.17
06.05.2006 – 10.30	11.00	11.00	7.33	7.31
26.05.2006 – 12.30	13.50	14.00	7.20	7.51
10.06.2006 – 12.15	11.00	11.20	7.21	7.42
22.06.2006 – 12.00	14.00	14.00	7.22	7.51
14.07.2006 – 09.30	10.00	10.00	7.20	7.37
28.08.2006 – 11.30	13.00	13.00	7.40	7.55
16.09.2006 – 10.50	09.00	09.50	7.24	7.44
28.10.2006 – 10.30	08.50	08.50	7.27	7.57
11.11.2006 – 13.30	08.00	08.00	7.41	7.61
10.12.2006 – 11.40	06.50	06.50	7.11	7.52
04.05.2007 – 10.30	10.00	10.00	7.28	7.63
Ortalama değer	10.40	10.49	7.22	7.47

Numunelerin sıcaklık değeri açısından; yaz mevsimine doğru sıcaklığın artış gösterdiği tespit edildi. Ancak 10 Haziran ve 14 Temmuz 2006 ölçümlerinde beklenen değerden daha düşük derecede (iklim ve ölçüm zamanından kaynaklandığı düşünülmektedir) sonuç alındı. Alınan sonuçların Atasoy ve Şeneş (2004) ile Bulut ve Akçimen (2015)'in bulguları ile örtüştüğü görülmektedir. Bu çalışmada yıl boyunca yapılan ölçümler doğrultusunda ortalama sıcaklık değerinin benzer çalışmalardan; Atasoy ve Şeneş (2004), Dişli ve ark. (2003), Şen ve Sönmez (2005), Vasile ve ark. (2017) ile Ajayi ve Okoh (2014)'un bulgularına göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun; çiftliğe giren suyun sıcaklık derecesi, hızlı akması ve iklim şartlarından kaynaklanabileceği öngörülmektedir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, Şifa alabalık üretim çiftliğinin suyu sıcaklık faktörü açısından I. sınıf kıta içi sular

grubuna girmekte (Anonim, 2019b) ve alabalık yetiştiriciliği için elverişli olduğu kanaatine varılmıştır.

Koliform grubu bakteriler, optimum büyüme için, pH 7-8 aralığını tercih ederler. Bu aralıkların dışındaki pH değerlerinde sayıları hızla düşer (Šolić ve Krstulović, 1992). pH parametresi açısından; Şifa alabalık çiftliği çıkışındaki suyun pH'ı tesis girişine oranla nisbi derecede fazla olduğu belirlenmiş olup Bulut ve Akçimen (2015)'in bulguları ile desteklenmektedir. Bu farklılığın, yemleme ve balık faaliyetlerinin sonucu olabileceği öngörülmektedir. Ayrıca benzer araştırmalardan (Atasoy ve Şeneş, 2004; Dişli ve ark., 2004; Şen ve Sönmez, 2005; Ajayi ve Okoh, 2014; Vasile ve ark., 2017) daha düşük olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu bulguların, Atatürk Baraj Gölü'nde çalışma yapan Atasoy ve Şeneş (2004)'in tespitlerinin aksine pH'ın, sıcaklık faktörü ile paralellik göstermediği görülmektedir. Şifa alabalık çiftlik suyunun ortalama pH değeri açısından I. sınıf kıta içi sular grubunun standartları içerisinde (Anonim, 2019b) olduğu ve alabalık yetiştiriciliğine uygun olduğunu göstermektedir.

### Su Numunelerindeki Heterotrofik Bakteri Oranları ile İlgili Bulgular

Çiftliğin giriş ve çıkışlarından alınan 100 ml'lik su örnekleri PCA besiyerinde 5°C, 27°C ve 35°C'de mikroorganizma sayısı tespit edilmiştir. 5°C, 27°C ve 35°C'de ortalama olarak giriş ve çıkışta sırasıyla  $8.8 \times 10^3$ - $26 \times 10^3$ ,  $410 \times 10^3$ - $1190 \times 10^3$  ve  $43 \times 10^3$ - $800 \times 10^3$  kob/100 ml sayılmıştır (Tablo 2). Yapılan ANOVA testine göre 5°C, 27°C ve 35°C sıcaklıklar için giriş ve çıkış bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p=0.424 > 0.05$ ).

**Tablo 2.** Su numunelerinde heterotrofik bakteri oranları ile ilgili sonuçlar

Örnekleme tarihi ve saat	Toplam heterotrofik bakteri sayısı (kob/100 ml)					
	5°C		27°C		35°C	
	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış
08.04.2006 – 14.00	- <sup>1</sup>	- <sup>1</sup>	140	260	2	2
22.04.2006 – 11.40	-	-	816	720	1327	153
06.05.2006 – 10.30	-	-	36	440	10	36
26.05.2006 – 12.30	-	-	10	520	- <sup>1</sup>	28
10.06.2006 – 12.15	-	-	$30 \times 10^3$	- <sup>1</sup>	$10 \times 10^3$	- <sup>1</sup>
22.06.2006 – 12.00	-	-	$188 \times 10^3$	$193 \times 10^3$	$80 \times 10^3$	$120 \times 10^3$
14.07.2006 – 09.30	-	-	$45 \times 10^3$	$90 \times 10^3$	$3 \times 10^3$	$90 \times 10^3$
28.08.2006 – 11.30	$102 \times 10^3$	$268 \times 10^3$	$40 \times 10^3$	$68 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$50 \times 10^3$
16.09.2006 – 10.50	$13 \times 10^3$	$71 \times 10^3$	$55 \times 10^3$	$564 \times 10^3$	$220 \times 10^3$	$370 \times 10^3$
28.10.2006 – 10.30	-	-	$170 \times 10^3$	$261 \times 10^3$	$14 \times 10^3$	$80 \times 10^3$
11.11.2006 – 13.30	-	-	$120 \times 10^3$	$28 \times 10^3$	$47 \times 10^3$	-
10.12.2006 – 11.40	-	-	$106 \times 10^3$	$28 \times 10^3$	$55 \times 10^3$	$48 \times 10^3$
04.05.2007 – 10.30	-	-	$75 \times 10^3$	$90 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$26 \times 10^3$
Ortalama değer	$8.8 \times 10^3$	$26 \times 10^3$	$410 \times 10^3$	$1190 \times 10^3$	$43 \times 10^3$	$800 \times 10^3$

<sup>1</sup>üreme yok.

Şamran suyu örneklerinde 5°C'de Ağustos ve Eylül ayları dışında, heterotrofik bakterilere rastlanılmamıştır. 27°C'de mikroorganizmaların girişte 22 Haziranda ( $188 \times 10^3$  kob/100 ml), çıkışta ise 16 Eylülde ( $564 \times 10^3$  kob/100 ml) en fazla olduğu tespit edildi. 35°C'de üreyen mikroorganizmaların çiftlik giriş ve çıkışında Eylül ayında sayıca arttığı analiz edilmiştir. Düşük sıcaklıklarda 27 ve 35°C'de üreyen mikroorganizmaların sayıca az olmasının bu canlıların ideal sıcaklık derecesinde

olmamaları şeklinde öngörülmektedir. 10 Haziranda çiftlik çıkışında 27°C ile 35°C’de ve 11 Aralıkta 35°C de mikroorganizma görülmedi. Bu durumun deneysel bir hata ya da öngörülemeyen başka sebeplerden kaynaklanabileceği şeklinde düşünülmektedir. Elde edilen bulguların, Diler ve ark. (2000), Terzi (2006), Zaccone ve ark. (2005) ile Çarbaş ve ark. (2008)’nin tespitleri ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Çiftlik giriş ve çıkışındaki suda heterotrofik bakteri sayısının farklılık gösterdiği (Tablo 2) görülmekte ve bu bulgunun Diler ve ark. (2000), Bulut ve Akçimen (2015), Vasile ve ark. (2017)’in ifadeleri ile desteklenmektedir. Bu farkın Bulut ve Akçimen (2015)’in ifade ettiği gibi balık üretim faaliyetlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

### Su Numunelerindeki Total Koliform Oranları ile İlgili Bulgular

BGL Broth tüplerinde gaz oluşturan tüpler dikkate alındığında, total koliformların ortalama olarak, tesisin giriş ve çıkış noktalarında sırasıyla 233 ve 576 kob/100 ml arasında değiştiği bulunmuştur (Tablo 3; Şekil 2). Bu bulgulara yapılan t-testine göre çiftlik çıkışında giriş oranla koliform sayılarında anlamlı bir farklılık görülmüştür ( $p=0.003<0.05$ ). Çiftliğin kaynak suyu, total koliform bakterileri açısından II. Sınıf kıta içi yüzeysel suların standartları içerisine dâhil olduğu görülmektedir. Total koliform bakterileri açısından alınan bulguların Bulut ve Akçimen (2015) ve Terzi (2006)’nin sonuçları ile örtüştüğü belirlendi. Çevresel orijinli koliformların, düşük sıcaklık derecelerinden, fazlaca etkilenmeden çoğaldıkları bildirilmiştir (Camper ve ark., 1991).

**Tablo 3.** Şifa alabalık çiftliğinin giriş ve çıkış noktalarından alınan su numunelerindeki toplam koliform oranları

Örnekleme tarihi ve saat	Total koliform sayısı (100 ml)	
	Giriş	Çıkış
08.04.2006 – 14.00	43	240
22.04.2006 – 11.40	43	460
06.05.2006 – 10.30	93	240
26.05.2006 – 12.30	240	1100
10.06.2006 – 12.15	43	460
22.06.2006 – 12.00	43	1100
14.07.2006 – 09.30	43	43
28.08.2006 – 11.30	110	1100
16.09.2006 – 10.50	93	1100
28.10.2006 – 10.30	460	1100
11.11.2006 – 13.30	93	460
10.12.2006 – 11.40	9.1	43
04.05.2007 – 10.30	23	43
Ortalama değer	102	576

### Su Numunelerindeki Fekal Koliform Oranları ile İlgili Bulgular

EC Broth tüplerinde gaz oluşturan tüpler dikkate alındığında, total koliformların ortalama olarak, tesisin giriş ve çıkış noktalarında sırasıyla 170 ve 557 kob/100 ml arasında değiştiği bulunmuştur (Tablo 4; Şekil 2).

**Tablo 4.** Şifa alabalık çiftliğinin giriş ve çıkış noktalarından alınan su numunelerindeki fekal koliform oranları

Örnekleme tarihi ve saat	Fekal koliform sayısı (kob/100 ml)	
	Giriş	Çıkış
08.04.2006 – 14.00	1	1
22.04.2006 – 11.40	43	460
06.05.2006 – 10.30	23	240
26.05.2006 – 12.30	240	1100
10.06.2006 – 12.15	43	460
22.06.2006 – 12.00	43	1100
14.07.2006 – 09.30	43	43
28.08.2006 – 11.30	1100	1100
16.09.2006 – 10.50	93	1100
28.10.2006 – 10.30	460	1100
11.11.2006 – 13.30	93	460
10.12.2006 – 11.40	9.1	43
04.05.2007 – 10.30	23	43
Ortalama değer	184	604

<sup>1</sup>Mikroorganizma görülmedi.



**Şekil 2.** En Muhtemel Sayı Yöntemiyle koliform grubu bakterilerin varlığını gösteren pozitif tüplerden örnek görüntü.

Doğal su kaynaklarında, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yönden kirlilik görülebilir. Kaynağın biyolojik yöndeki kirliliği ve patojenlerin tespiti indikatör mikroorganizmalar olarak bilinen koliformların analizi ile yapılır. Kaynak suda indikatör mikroorganizmaların varlığı suya fekal kirliliğin karıştığı göstergesidir. Kıta içi yüzeysel suların, I. ve II. sınıf sular için kabul edilebilir bakteriyolojik parametreler En Muhtemel Sayı Yöntemi ile sırasıyla fekal ve total koliform için 10/100ml-100/100ml değerlerini aşmamalıdır (Anonim, 2019b). Şamran suyu kaynağının çıkışında total ve fekal koliform grubu bakterilere rastlanılmamıştır. Ancak çiftliğin giriş ve çıkış noktalarında ortalama olarak sırasıyla 102-576 kob/100ml total koliform ve 184-604 kob/100ml fekal koliform bulunmuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda koliformların çiftlik giriş suyunda en fazla Ağustos ayında (1100 kob/100ml) ve en az Aralık ayında (9.1 kob/100ml) görülmüştür. Yapılan t-testine göre çiftlik çıkışında giriş oranla fekal koliform sayılarında anlamlı bir farklılık görülmüştür ( $p=0.018<0.05$ ). Numunelerde koliform gurubu bakterilere rastlanması, su kaynağının fekal yönden kirlendiği anlamına gelir. Sıcaklık faktörüne bağlı olarak koliformların artması, koliformların optimum sıcaklık değerine yaklaşması ( $35-44^{\circ}\text{C}$ ), su kaynağına özellikle çiftlik

hayvanlarının girmesi ve sıcaklığın mikrobiyolojik çoğalmanın üzerinde pozitif etki göstermesine bağlanmaktadır. Çiftliğin giriş suyu fekal koliformlar açısından II. sınıf, çıkışı ise III. sınıf kıta içi yüzeysel suların standartları içerisine dâhil olduğu görülmektedir.

Bu araştırmada elde edilen bulgulardan görülmektedir ki, çiftliğin çıkış numunelerinde indikatör bakteri sayısı giriş numunelerine göre çok daha fazladır. Balık üretiminde kullanılan yemler ve havuzlardaki balıkların boşaltım ürünleri bazı heterotrofik bakterilerin sayısını ve koliform grubu bakterin sayısını olumlu yönde etkiler. Koliform grubu bakteriler nitratı, nitrite indirger ve nitriti metabolizmalarında kullanarak çoğalırlar (Lewis ve Hinshelwood, 1948). Normal şartlarda koliform grubu bakteriler balıkların yumurta, deri, solungaç ve barsak sisteminin florasında bulunmazlar. Bu bakteriler, balık çiftliklerini besleyen su kaynaklarının, fekal yolla kirletilmesi sonucu, sisteme dâhil olurlar (Cahill, 1990). Elde edilen bulgular ışığında Şifa Alabalık çiftliğinin su kaynağında var olan indikatör mikroorganizmaların sayıca artmasına neden olduğu ve Şamran Kanalı'nın, kaynağından itibaren fekal yönden kirlenmemesi için, gerekli önlemlerin alınması, düşüncesindeyiz.

## Sonuçlar

Bu araştırmanın verilerinden anlaşılabilirdiği gibi Şifa alabalık çiftliğinin su ihtiyacını karşılayan Şamran suyunun çiftliğe ulaşmaya kadar kalitesinin düştüğünü, suya balık ve insan sağlığı açısından sakıncalı olan patojen mikroorganizmaların karıştığı belirlenmiştir. Su kaynağı; çiftlik hayvanı girişleri, kaynağın kenarına veya yakınına hayvan gübrelerinin yığılması, kanalizasyon atıklarının karışımı, erozyonla gelen atıkların karışımı, çöplerin kaynağa dökümü, yağışlar ve kaynaktan çamaşır yıkanması gibi durumlar suyun kalitesini ve güvenilirliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu bağlamda, çiftlikte olabilecek salgın hastalık ya da toplu balık ölümlerinin olmaması ve insan sağlığının olumsuz etkilenmemesi için, gerekli tedbirlerin alınması inancındayız.

## Teşekkür

Bu araştırmayı, 2006-FBE-087 proje kapsamında, maddi yönden destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederiz. Ayrıca, çiftlik çalışanlarına ve istatistiksel analizlerde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Hayriye Esra AKYÜZ'e teşekkür ederiz. Bu çalışma, "Şamran Suyu Üzerinde Kurulmuş Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Tesisinin Suyun Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkileri" adlı yüksek lisans tezinin özetlenmesi ile oluşturulmuştur.

## Kaynaklar

- Acar, B., Katırcıoğlu, H., Erkoç, F. (2002). Akvaryum suyunda toplam canlı koliform bakterilerin incelenmesi. *G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 22(1), 41-46.
- Ajayi, A. O., Okoh, A. I. (2014). Bacteriological study of pond water for aquaculture purposes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12(2), 1260-1265.

- Anonim (1995). *American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19.th Edn. APHA Inc. Washington DC. Erişim tarihi: 12.10.2006.
- Anonim (2019a). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. Çevre ve Orman Bakanlığı, Erişim tarihi: 24.06.2019, <http://web.deu.edu.tr/atiksu/ana39/skky.pdf>.
- Anonim (2019b). Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik, Orman ve Su İşleri Bakanlığı, (Sayı: 29327 / 15 Nisan 2015), Erişim tarihi: 07.08.2019, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/04/20150415-18.htm>.
- Anonim (2019c). Erişim tarihi: 28.08.2019, <https://earth.google.com/web/@38.3598051,43.39707706,1985.06296349a,33554.69936235d,35y,0h,41.72491825t,0r/data=ChcaFQoNL2cvMTFjNDZmXzkyeRgBIAEoAg>.
- Atasoy, A. D., Şeneş, S. (2004). Atatürk baraj gölü'nde alabalık üretiminin oluşturduğu kirlilik yükünün araştırılması. *Ekoloji*, 14(53), 9-17.
- Belli, O. (1999). Dams, reservoirs and irrigation channels of the Van plain in the period of the Urartian kingdom. *Anatolian studies*, 49, 11-26.
- Bulut, C., Akçimen, U. (2015). Burdur Karamusa deresi'nde gökkuşağı alabalığı işletmesinin dere üzerine fizikokimyasal ve mikrobiyolojik etkisi. *Yunus Arasturma Bülteni*, 1, 45-58.
- Cahill, M. M. (1990). Bacterial flora of fishes: a review. *Microbial Ecology*, 19(1), 21-41.
- Camper, A. K., McFeters, G. A., Characklis, W. G., Jones, W. L. (1991). Growth kinetics of coliform bacteria under conditions relevant to drinking water distribution systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(8), 2233-2239.
- Cornel, G. E., Whoriskey, F. G. (1992). The effect of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cage culture on the water quality, zooplankton, benthos, sediments of Lac du Passage, Quebec. *Aquaculture*, 109, 101-117.
- Çakır, İ. (2000). Koliform grup bakteriler ve *E. coli.*, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, 2, 335-344.
- Çarbaş, A., Yanık, T., Kaya, M. (2008). Erzurum ilindeki bazı ticari gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinin yetiştiricilik suyu, yem ve balıklarının mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 39(1), 55-60.
- Diler, Ö., Altun, S., Çalığışu, F., Diler, A. (2000). Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. *Turk J Vet Anim Sci*, 24, 251-259.
- Dişli, M., Akkurt, F., Alıcılar, A. (2003). Şanlıurfa balıklıgöl suyunun fiziksel parametreler yönüyle değerlendirilmesi. *Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der.*, 18(4), 81-88.
- Dişli, M., Akkurt, F., Alıcılar, A. (2004). Şanlıurfa balıklıgöl suyunun bazı kimyasal parametrelerinin mevsimlere göre değişiminin değerlendirilmesi. *Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der.*, 19(3), 287-294.
- Gerba, C. P. (2009). Indicator microorganisms., *In Environmental microbiology* (pp. 485-499). Academic Press.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. (1997). *Su kalitesi*. Ankara: TC Sağlık Bakanlığı, 95 s.
- Gürgün, V., Halkman, A. K. (1988). *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 7, 160 s.

- Lewis, P. R., Hinshelwood, C. N. (1948). The growth of coliform bacteria in media containing nitrate and nitrite; adaptation to growth with nitrate and nitrite as nitrogen sources. *Journal of the Chemical Society*, 174, 824.
- Macedo, C. F., Amaral, L. A., Sipaúba-Tavares, L. H. (2011). Microbiology quality in continuous water flow fish ponds. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(2), 701-708.
- Njoku, O. E., Agwa, O. K., Ibiene, A. A. (2015). An investigation of the microbiological and physicochemical profile of some fish pond water within the Niger Delta region of Nigeria. *African journal of food Science*, 9(3), 155-162.
- Öner, M. 1987. *Mikrobal Ekoloji*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 282 s.
- Shaheduzzaman, M., Rahman, M. S., Nur, I. T. (2016). Influence of temperature on the growth of fecal coliform. *Stamford Journal of Microbiology*, 6(1), 20-23.
- Šolić, M., Krstulović, N. (1992). Separate and combined effects of solar radiation, temperature, salinity, and pH on the survival of faecal coliforms in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, 24(8), 411-416.
- Şen, B., Sönmez, F. (2005). Bir balık üretim tesisi (Elazığ)'ndeki balık havuzlarında su kalitesi ve mevsimsel değişimleri. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Der.*, 17(4), 599-603.
- Terzi, G. (2006). Ankara ilindeki bazı gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerine ait su, yem ve balıkların mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 32(1), 37-46.
- Timur, G., Timur, M. (2003). *Balık Hastalıkları*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Rektörlük yayınları, İstanbul, 538 s.
- Valenzuela-Armenta, J. A., Díaz-Camacho, S. P., Cabanillas-Ramos, J. A., de Jesus Uribe-Beltrán, M., de la Cruz, M. D. C., Osuna-Ramírez, I., Báez-Flores, M. E. (2018). Microbiological analysis of Tilapia and water in aquaculture farms from sinaloa. *Biocencia*, 20(1), 20-26.
- Vasile, M. A., Metaxa, I., Plăcintă, S., Mogodan, A., Petrea, Ş. M., Platon, C. (2017). Preliminary study on bacteriological and physicochemical water profile of cyprinid fish ponds. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 10(1), 103-112.
- Volkan, F., Boz, B. (2006). Türkiye'de su kaynakları geliştirme politikalarına yönelik tespitler ve öneriler. *TMMOB Su Politikaları Kongresi* 10-155.
- Yıldız, P. O. (2019). Turunçgil kabuk yağlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrü üzerine etkileri. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(1), 17-26.
- Yıldırım, Ö., Korkut, A. Y. (2004). Su ürünleri yemlerinin çevreye etkisi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21(1-2), 167-172.
- Yılmaz, M. L., Peker, H. S. (2013). Su kaynaklarının Türkiye açısından ekono-politik önemi ekseninde olası bir tehlike: Su savaşları. *Çankırı Karatekin Üniversitesi İİBF Dergisi*, 3(1), 57-74.
- Zacccone, R., Mancuso, M., Modica, A., Zampino, D. (2005). Microbiological indicators for aquaculture impact in Mar Piccolo (Taranto, Italy). *Aquaculture International*, 13(1-2), 167-173.



## Hayvan Beslemede Kullanılan Bazı Yemlerin Organik Madde Sindirilebilirliklerinin *In Vivo* ve *In Vitro* Yöntemlerle Belirlenmesi

Sevilay GÜL<sup>1\*</sup> Tülay ÖĞRETMEN

<sup>1</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Tekirdağ, Turkey

\*e-mail: sgul@nku.edu.tr

Geliş tarihi/Received:29/11/2019

Kabul tarihi/Accepted:20/12/2019

### Özet

Araştırmada 7 farklı yemin (buğday samanı, çayır kuru otu, yonca kuru otu, arpa, soya, pamuk tohumu küspesi, soya küspesi) klasik sindirim denemesi (*in vivo*) ve gaz testi (HFT) ile gübre-gaz tekniği (*in vitro*) yöntemleri kullanılarak organik madde sindirilebilirlikleri belirlenmiştir.

*In vivo* yöntemde toplam 5 adet Karakaş erkek toklu kullanılmıştır. Gaz testin (HFT) de 2 adet Kıvrıcık ırkına ait fistüllü koç kullanılmıştır.

Gübre-gaz tekniğinde ise 3 adet Karagül ırkına ait koç kullanılmıştır. *In vivo* ve *in vitro* gaz testi değerleri arasındaki ilişki ( $R= 0.45$ ,  $P < 0.01$ ) ile *in vivo* ve *in vitro* gübre-gaz tekniği değerleri arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ( $R= 0.52$ ,  $P < 0.01$ ).

**Anahtar Kelimeler:** *In Vivo* ve *In Vitro*, OM Sindirilebilirlik, Gübre, Rumen Sıvısı

## Determination of Digestibility Organic Matter of Some Feed Used In Animal Nutrition by *In Vivo* and *In Vitro* Methods

### Abstract

In this study, the energy values of seven different feeds (wheat straw, alfalfa hay, grass hay, barley, soybean, cotton seed oil meal, soybean oil meal) were determined by using *in vivo* (digestibility trial) and *in vitro* gas test (HFT) and faeces use as inoculum in the gas test.

In the digestibility trial, five Karakaş rams were used. The required rumen fluid for gas test were supplied a rumen fistulated two Kıvrıcık rams and faeces were supplied three Karagül rams.

The correlation between *in vivo* and *in vitro* gas test (HFT) NEL contents ( $R= 0.45$ ,  $P < 0.01$ ) and the other correlation between *in vivo* and *in vitro* faeces use as inoculum in the gas test NEL contents were high significant ( $R= 0.52$ ,  $P < 0.01$ ). Therefore it may be recommended to use faeces as inoculum in the gas test potential for rumen fluid.

**Keywords:** *In Vivo* and *In Vitro*, OM Digestibility, Faeces, Rumen Fluid

### Giriş

Günümüzde insanların beslenmesinde hayvansal gıdaların önemi büyüktür. Bu sebeptendir ki insan hayatında hayvancılığın önemli bir yeri bulunmaktadır. Zamanla, dünya nüfusunun hızlı artışına paralel olarak mevcut hayvan varlığının ve kullanılabilir tarım alanlarının sınırlı oluşu gibi zorlayıcı etmenler, insanları tarih içerisinde hayvanlardan daha fazla ürün alabilmenin yollarını araştırmaya sevk etmiştir. Bu araştırmalar bir yandan hayvanın genetik kapasitesini artırmaya yönelik olarak devam

ederken, diğer yandan da elde edilen genetik potansiyelden daha iyi yararlanmak için beslenme ve metabolizmaya yönelik olarak sürdürülmüştür (Öğretmen, 1991; Şeker, 1994).

Kalıtısal yeteneği iyileştirilmiş olan hatların elde edilmesi ile hayvanların besin madde gereksinimlerinde (BMg) de bazı değişimler olmuştur. Gerek mevcut hayvan popülasyonunun ve gerekse bunlardan elde edilen yeni hatların BMg'lerinde meydana gelen bu değişimlerin ortaya konması amacıyla yeni çalışmalara başlanmıştır, yeni BMg önerileri yoluna gidilmiştir. Bu doğrultuda günlük olarak yemlemede kullanılan yem öğelerinin yada bunlardan hazırlanan rasyonların veya karmaların besin madde içerikleri (BM<sub>i</sub>) ile özellikleri üzerinde daha titiz olunması gereği ortaya çıkmıştır (Kılıç ve ark., 1986; Kılıç, 1988).

Yemler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde, yemlerin kimyasal bileşenleri ile enerji ve sindirilebilir besin maddelerinin saptanması önem taşımaktadır. Yemlerin enerji ve sindirilebilir besin maddelerinin belirlenmesi, beslenme değerlerini belirleyen kriterlerden olup, genellikle de *in vivo* yöntemlerle saptanmaktadır (Van Soest, 1994; Kılıç, 1986). Bu yöntemlerin zaman alıcı ve pahalı olması, araştırmacıları *in vitro* çalışmalara yöneltmiştir. Bu durumu dikkate alarak Menke ve ark. (1979)'ı yemlerin *in vitro* parçalanma hızı, miktarı, metabolik enerji ve organik madde sindirim derecesini belirlemede *in vitro* gaz üretim tekniğini kullanmışlardır. Gaz üretim tekniği yemlerin fermantasyonu sonucu açığa çıkan gazların (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, vb.) ölçümüne dayanan yöntem olup, üretilen gaz miktarından faydalanılarak yeme ait birçok parametre hesaplanabilmektedir (Blümmel ve Ørskov, 1993; Khazaal ve ark., 1993). Menke ve ark. (1979)'ı tarafından bulunan bu yöntemde; rumen fistüllü hayvana gereksinim duyulması, rumen fistülü için cerrahi girişimin gerekliliği, hayvana fistül takılması ile ona sıkıntı verilmesi, ekstra sağlık giderleri ve en önemlisi de hayvana verilen sıkıntıdan dolayı duyulan acıma duygusu gibi olumsuz nedenler araştırmacıları rumen sıvısının yerine geçebilecek bir inokulant arama yoluna sevk etmiştir. Rumen sıvısı yerine inokulant olarak taze koyun gübresi kullanımı yoluna gidilmiştir. Bu yöntem Almanya Hohenheim Üniversitesi Ziraat Enstitüsünde sıkça kullanıla gelmiştir (El Shaer ve ark., 1987).

Yemlerin besin madde içeriklerini ve organik madde sindirilebilirliklerinin saptanması amacıyla girişilen bu çabaların ışığı altında; HFT (Hohenheimer Futterwert Test) gaz testi ile gübre- gaz tekniği (ggt) *in vitro* yöntemleri ile *in vivo* yöntem (klasik sindirim denemeleri) ile bulunan organik madde sindirilebilirlikleri arasındaki uyumu, geviş getirenlerin beslenmesinde sıkça kullanılan yem öğeleri ile saptamak çalışmanın amacını oluşturmaktadır

## **Materyal ve Yöntem**

### **Materyal**

#### *Hayvan materyali*

Klasik sindirim denemelerinin yürütülmesinde YYÜ Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde bulunan Karakaş ırkına ait 1,5 yaşında 5 adet erkek toklu kullanılmıştır.

İn vitro gaz testi (HFT)'nde kullanılmak üzere gerekli rumen sıvısının elde edilmesinde, YYÜ Veteriner Fakültesi deneme ağılında bulunan Morkaraman ırkına ait 5-6 yaşlı 2 adet rumen fistüllü koç kullanılmıştır.

Diğer bir in vitro çalışma olan, gübre-gaz tekniğinde (ggt) gereksinim duyulan gübrenin elde edilmesinde ise; YYÜ Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği deneme ağılında bulunan Karagül ırkına ait 4-5 yaşlı 3 adet koç kullanılmıştır.

#### *Yem materyali*

Denemeler, 7 yem örneği ile yürütülmüştür. Buna göre deneme materyali yemlerin kaba yemler grubunda; çayır kuru otu (ÇKO), yonca kuru otu (YKO), buğday samanı, dane yemler grubunda; arpa, soya, endüstri yan ürünleri grubunda ise soya fasülyesi küspesi (ekstraksiyon) (SFK), pamuk tohumu küspesi (ekstraksiyon) (PTK) bulunmaktadır.

#### **Yöntem**

##### *Sindirim denemelerinde kullanılan yöntem*

Sindirim denemeleri, deneme hayvanlarının bireysel olarak barındırılabilmesi için hazırlanmış olan padoklarda yürütülmüştür. Hayvanın hareketliliğini en alt düzeyde tutarak yaşamını devam ettirebileceği şekilde düzenlenmiş bu padokların ön kısmında sabit yemlik bulunmakta, hayvanın giriş ve çıkışları arka taraftan yapılmaktadır. Bu düzende hayvanlar önlerinde sürekli olarak yem bulabildikleri halde, su günde 2-3 kez su kabı içinde tüketimlerine sunulmuştur. Denemenin ilk 4 günü yemden yeme geçiş dönemi olarak kabul edilmiş olup bu dönemde hayvanların yemlere adaptasyonları sağlanmıştır. Daha sonraki denemenin ilk 10 günü ön dönem olarak kabul edilmiş olup bu dönemde hayvanların sindirim kanalında bulunan, yani deneme öncesi tüketilmiş olan yem kalıntılarının, sindirim kanalından atıldığı kabul edilmiştir. Ayrıca bu ön dönemde ortalama yem tüketimi saptanarak esas dönemde verilmesi gereken yem miktarı saptanmıştır.

Deneme hayvanlarına, ön dönem sonunda gübre toplama torbaları takılmıştır. 7 gün süreyle gübre toplanması planlanmış ve gübre toplama işlemi, her sabah yemleme öncesi aynı saatte yapılmıştır. Toplanan gübre miktarı tartım ile belirlendikten sonra, günlük gübre miktarının 1/7 si örnek olarak ayrılmış ve ağız kilitli naylon torba içerisine konularak analizin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda bekletilmiştir (Bulgurlu ve Ergül, 1978).

##### *Kimyasal analizlerde kullanılan yöntem*

Yem ve gübre örneklerinde; KM, HK, HP, HY ve HS analizleri Weender (Bulgurlu ve Ergül, 1978) ADF ve NDF analizleri ise Van Soest'e göre yapılmıştır (Van Soest, 1967).

Yemlerin BMSD içeriklerinin hesaplanmasında yararlanılan eşitlik;

$$BMSD\% = \frac{\text{Tüketilen BM} - \text{Gübre ile atılan BM} \times 100}{\text{Tüketilen BM}}$$

Bu eşitliklerde ilgili HBM miktarları, şayet yem değeri;  
-yem kuru maddesinde (KM) hesaplanacak ise yem KM sindeki besin madde (BM) miktarları,  
-doğal yemde hesaplanacaksa, doğal yemdeki BM miktarları, g olarak alınmış ve hesaplamalarda kullanılmıştır (Kılıç, 1985; 1987; 1988 ve Ergül, 1988).

#### *İn vitro Gaz testinde (HFT) kullanılan yöntem*

Organik madde sindirimlerinin saptanmasında, yemlerin rumen sıvısının da bulunduğu ortamda inkubasyona tabi tutularak oluşan gaz miktarının belirlenmesi esas alınmıştır (Menke ve ark., 1979; Steingass, 1983; Kılıç, 1987). Yöntemde, fistüllü geviş getiren (GG) hayvan kullanımı önerilmektedir. Rumen sıvısı alınacak hayvanın standart mikrobiyal içeriğe sahip olmasını sağlamak amacıyla uzun süre düzenli ve standart bir rasyon ile yemlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla, rumen sıvısı alımından en az 10 gün önce (yapısı belli) bir kaba yem ile birlikte yoğun yem (genellikle yapısı bilinen bir karma yem) ile beslenmesi önerilmiştir (Steingass, 1983). Çalışmada fistüllü 2 adet koçtan rumen sıvısı alınmıştır. Deneme hayvanları sabah ve akşam öğünlerinde % 40 ÇKO ve % 60 süt karma yemlerinden oluşan rasyon ile standart olarak beslenmişlerdir.

Yemlerin gaz üretimini belirleyebilmek amacıyla 100 ml hacimli özel cam şırıngalar (Model Fortuna, Häberle Labortechnik, LonseeEttlenschieß, Germany) kullanılmış ve yaklaşık 0.200 g kuru yem örnekleri dört tekerrürlü olarak cam şırıngalar içerisine konulmuştur. Gaz oluşumunu sağlamak amacıyla Menke ve ark. (1979) tarafından bildirilen yöntemle göre hazırlanan rumen sıvısı ve tampon çözeltisinden 30 ml ilave edilmiştir. Bu işlemten sonra tüpler 39 °C'deki inkübasyon dolabına alınmışlardır. Daha sonra sırasıyla inkübasyonun 0, 3, 6, 12, 24, 48, saatlerde tüpler içerisinde üretilen gaz miktarları saptanmıştır.

#### *Yemlerin BMSD içeriklerinin hesaplanmasında yararlanılan eşitlik*

Organik madde sindirim derecesinin, in vitro yöntemlere göre hesaplanması amacıyla da eşitlikler geliştirilmiştir. Çalışmada yemlerin gaz oluşumu (GO) verilerinden yararlanılarak organik madde sindirim derecelerinin (OMSD) hesaplanmasında;

$$OMSD \% = 0.7602 GO + 0.5365 HP + 22.53$$

eşitliğinden yararlanılmıştır (DLG, 1981). Eşitliklerde kullanılan HP verileri KM de, % verileridir.

#### *Gübre-gaz tekniğinde kullanılan yöntem*

Aynen gaz testinde (Hohenheimer Futterwert Test) olduğu gibi amaç; yemlerin taze koyun gübresinin bulunduğu ortamda inkubasyona tabi tutularak oluşan gaz miktarından yararlanılarak organik madde sindirilebilirliklerinin saptanması amacıyla Aiple ve ark. (1992) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Çalışmada 2 adet koçtan gübre alınmıştır. Deneme hayvanları sabah ve akşam öğünlerinde % 40 ÇKO ve % 60 süt karma yemlerinden oluşan rasyon ile standart olarak beslenmişlerdir.

*Yöntemin uygulanması*

Gaz oluşumunu sağlamak amacıyla gübre solusyonuna eklenmesi önerilen çözeltiler ve bunların yapısı gaz testinde olduğu gibidir (Aiple ve ark., 1992). Redüksiyon çözeltilerini eklemeyen önce HFT yönteminde önerildiği şekilde woul şişesine çözeltiler sırasıyla eklenmiş, Çözelti renksiz hale geldikten sonra, hazırlanan bu solusyonun yarısı ile birlikte taze gübre blenderde CO<sub>2</sub> gazı verilerek yüksek devirde karıştırıldıktan sonra geriye kalan solüsyonun içerisine süzülüp CO<sub>2</sub> gazı eşliğinde reduksiyon çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra 5 dakika daha karışması sağlanmıştır. Bu sürenin bitiminde şırıngalara doldurulmaya hazır olan solüsyona sürekli olarak CO<sub>2</sub> verilmeye devam edilerek içerisinde yem örneği bulunan ve 39 °C'ye ısıtılmış silindirlere uç kısımlarındaki silikon boru aracılığı ile yarı otomatik pipetten 30'ar ml gübre karışımı aktarılmıştır. Daha sonra sırasıyla inkübasyonun 0, 3, 6, 12, 24, 48, saatlerde tüpler içerisinde üretilen gaz miktarları saptanmıştır.

*Yemlerin BMSD içeriklerinin hesaplanmasında yararlanılan eşitlikler*

OMSD leri, kaba yemler için (Aiple, 1993);

$$\text{OMSD (\%)}=1,013 \text{ GO}+1,817 \text{ HY}+0,646 \text{ HK}+0,55$$

Kesif yemler için (Aiple, 1993);

$$\text{OMSD (\%)}=1,013 \text{ GO}+0,637 \text{ HP}+1274 \text{ HK}-3,16$$

Eşitliklerde kullanılan HP, HY, HS, NÖM verileri KM de % verileridir.

*İstatistik analizlerde kullanılan yöntem*

Yemlerin in vivo ve iv vitro yöntemlerle bulunan GO ve OMSD<sub>i</sub> leri arasındaki ilişkiyi belirlemek için korelasyon ve regresyon analizleri SAS (SAS, 1988) adlı paket programı kullanılarak yapılmıştır.

**Bulgular***İn Vivo Deneme Bulguları*

Çalışmada kullanılan kaba yem, dane ve yağ sanayi yan ürünlerinden oluşan çeşitli yemlerin kuru maddedeki (KM) HBM<sub>i</sub> leri toplu halde Tablo 1. de verilmiştir

Tablo 1. Deneme yemlerinin HBM<sub>i</sub> leri, g/kg KM

Yemler	OM	HP	HY	HS	NÖM	ADF	NDF
<b>BS</b>	896.05	35.25	11.80	479.00	370.00	546.55	733.25
<b>ÇKO</b>	896.90	89.80	14.35	360.00	432.75	504.45	616.70
<b>YKO</b>	892.95	138.95	10.30	361.75	381.95	506.10	524.65
<b>Arpa</b>	972.20	119.30	20.55	60.60	771.75	94.45	443.70
<b>Soya</b>	943.80	408.30	238.80	76.50	220.20	194.35	169.45
<b>PTK</b>	940.15	298.70	62.20	247.55	331.70	464.65	507.75
<b>SFK</b>	918.35	502.50	9.85	70.10	335.90	348.10	135.60

OM: organik madde, HP: ham protein, HY: ham yağ, HS: ham selüloz, NÖM: nitrojensiz Öz madde ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif, NDF: Nötral deterjanda çözünmeyen lif,

Hesaplanan ortalama besin maddesi sindirim dereceleri (BMSD) ile buna bağlı olarak da sindirilebilir ham besin madde içerikleri (SHBM<sub>i</sub>) Tablo 2. de verilmiştir.

*In Vitro Gaz Testi (HFT) Deneme Bulguları*

Almanya Hohenheim Hayvan Besleme Enstitüsü'nde, yemlerin karşılaştırılması amacı ile OMSD'nden faydalanma yoluna da gidilmiştir. Bundan hareketle bu çalışmada da gerek sindirim denemesi bulgularından ve gerekse in vitro yöntemlerin (gaz testi, gübre-gaz tekniği) gaz oluşumlarından (GO) yararlanılarak OMSD hesaplanmıştır. In vitro gaz testi (HFT) ye göre deneme yemlerine ait 24. ve 48. Saatteki GO'ları Tablo 3 de OMSD'leri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 2. Deneme yemlerinin ortalama HBM'lerinin SD'leri ve SHBM<sub>i</sub>'leri, KM'de

Yemler	BM leri	KM	OM	HP	HY	HS	NÖM	ADF	NDF
BS	SD %	66.31± 0.86	60.13± 1.47	30.34± 2.39	66.32± 0.86	69.41± 1.06	62.06± 1.71	61.84± 1.60	66.52± 0.93
	SHBM, g/kgKM	633.86± 6.09	605.34± 14.70	10.68± 0.84	8.39± 0.26	332.48± 5.10	228.41± 6.29	338.01± 8.76	487.77± 6.86
ÇKO	SD %	72.08± 1.79	70.38± 1.87	59.59± 1.08	72.08± 1.79	70.97± 1.47	70.16± 1.65	67.83± 1.61	65.94± 1.78
	SHBM, g/kgKM	645.19± 15.99	703.77± 18.72	53.54± 0.97	6.45± 0.41	254.27± 5.26	303.64± 7.16	342.19± 8.14	406.67± 10.96
YKO	SD %	57.47± 0.75	54.47± 0.77	66.87± 1.01	57.47± 0.75	46.34± 1.91	60.46± 1.09	50.57± 1.61	46.67± 1.25
	SHBM, g/kgKM	513.20± ±6.73	544.65± 7.65	92.93± 1.41	4.74± 0.91	167.66± 6.91	230.94± 4.16	255.95± 6.59	244.90± 6.55
Arpa	SD %	80.16± 4.01	78.15± 4.26	57.55± 4.86	80.17± 4.01	76.48± 2.97	75.12± 2.07	49.06± 3.59	74.35± 4.62
	SHBM, g/kgKM	807.95± 40.44	781.52± 42.61	71.22± 6.01	17.33± 0.66	48.09± 1.87	601.01± 16.58	48.07± 3.52	341.95± 21.26
Soya	SD %	79.29± 3.72	77.55± 4.19	85.51± 1.44	79.29± ±3.72	67.16± 9.51	55.75± 7.55	74.66± 7.19	57.74± 6.53
	SHBM, g/kgKM	748.41± 35.06	775.47± 41.87	349.18± 5.87	233.28± 0.84	51.42± 7.28	122.79± 16.62	145.11± 13.99	97.84± 11.06
PTK	SD %	77.00± 4.62	79.44± 5.01	68.89± 1.62	56.05± 0.55	79.13± 1.77	64.36± 5.60	60.63± 6.34	82.27 ± 4.19
	SHBM, g/kgKM	723.86± 43.52	794.41± 50.12	205.80± 4.84	77.00± 4.63	195.86± 4.38	213.49± 18.57	281.73± 29.46	417.77± 21.30
SFK	SD %	93.30± 09	90.54± 3.72	89.57± 0.86	93.30± 3.09	69.15± 6.76	71.50± 3.04	68.09± 5.59	79.41± 4.48
	SHBM, g/kgKM	856.79± 28.42	905.43± 37.15	450.02± 4.33	8.90± .19	48.53± 4.75	240.15± 10.21	237.03± 19.46	107.68± 6.07

BS; buğday samanı, ÇKO; çayır kuru otu, YKO; yonca kuru otu, PTK; pamuk tohumu küspesi, SFK; soya fasülyesi küspesi, SD; sindirim derecesi, SHBM; sindirilebilir ham besin maddeleri.

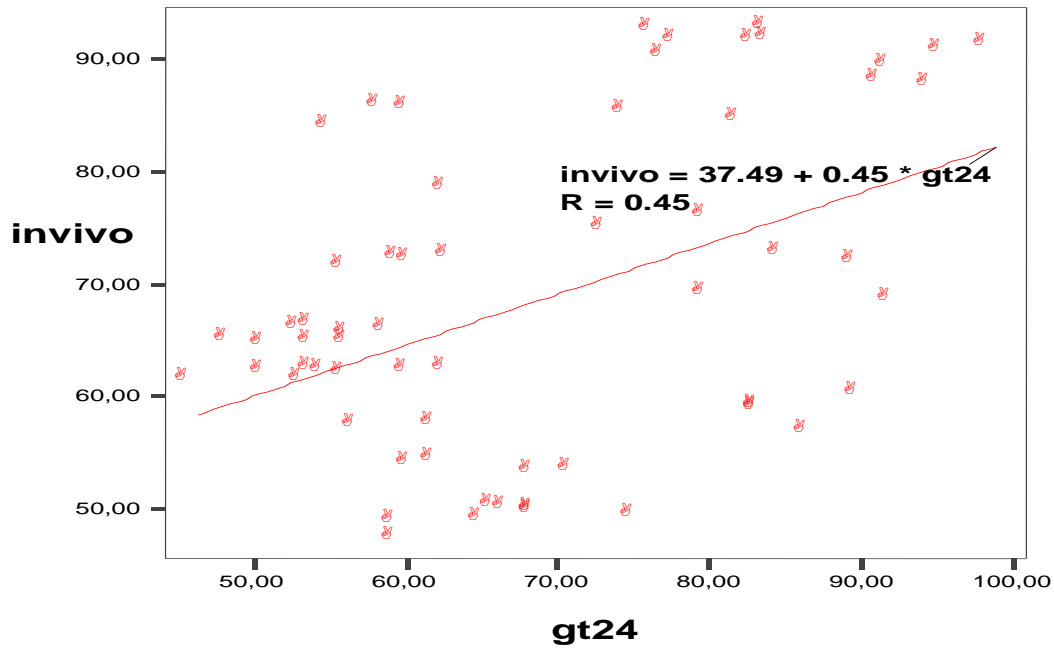
Tablo 3. Deneme yemlerinin 24 ve 48 saatlik inkubasyonunda net GO ları

Yem	24.Net GO, ml/200 mg KM	$\bar{S}_x$	Min.	Max	48.Net GO ml/200 mg KM	$\bar{S}_x$	Min	Max
BS	37.09	1.13	28.37	41.68	46.43	2.11	31.89	53.88
ÇKO	40.09	1.05	34.30	45.97	51.02	1.05	44.63	57.04
YKO	46.66	1.62	38.75	58.13	55.44	1.95	46.67	66.64
Arpa	72.45	3.92	59.06	90.35	81.15	4.65	68.75	102.52
Soya	44.27	2.40	33.02	54.91	45.95	2.34	35.24	58.00
PTK	23.99	1.30	18.40	28.70	34.06	2.10	21.51	41.00
SFK	45.07	3.25	30.39	54.47	54.12	2.79	38.08	61.54

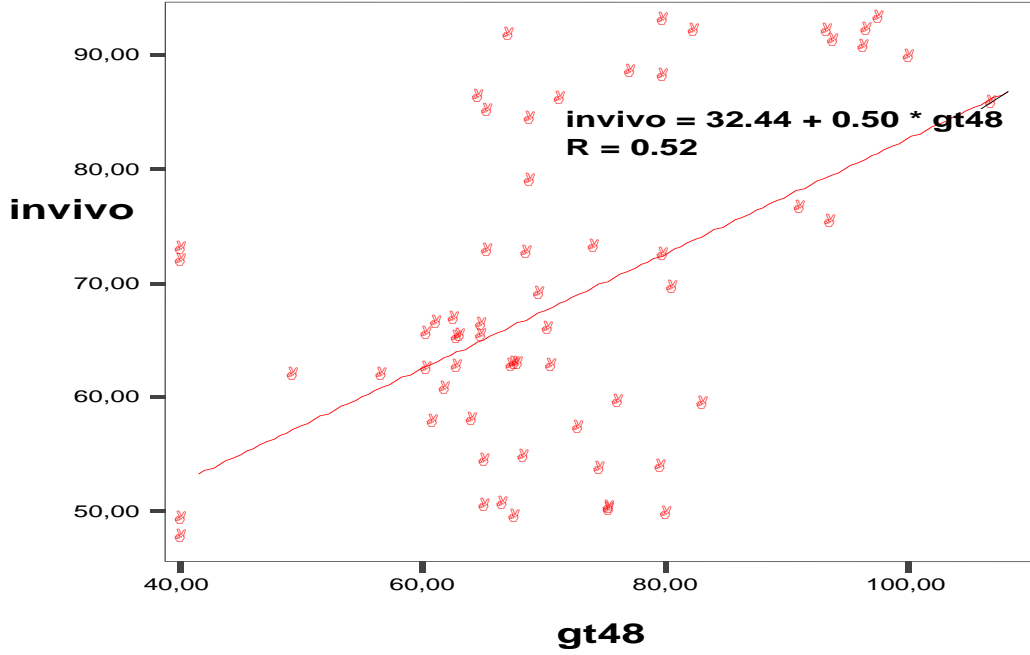
Tablo 4. İn vitro gaz testi (HFT) ye göre deneme yemlerine ait 24. ve 48. saatteki OMSD leri

Yem	24. saat OMSD%	$\bar{S}_x$	Min.	Max.	48. saat OMSD%	$\bar{S}_x$	Min.	Max.
BS	52.98	1.77	46.35	56.46	61.08	1.96	49.02	71.83
ÇKO	58.72	0.80	54.32	63.20	67.04	0.87	62.18	71.61
YKO	66.84	1.23	60.83	75.57	72.84	1.71	66.34	81.52
Arpa	85.20	2.98	75.02	98.81	91.82	3.53	82.39	108.06
Soya	82.18	1.82	73.62	90.26	83.46	1.78	75.32	92.62
PTK	59.78	0.99	55.53	63.36	67.43	1.59	57.90	72.71
SFK	88.77	2.47	46.35	95.65	95.66	2.119	90.65	100.67

Tablo 3 ve 4'deki verilerden faydalanılarak hesaplanan 24. saatteki in vivo ve in vitro gaz testi (gt) arasındaki uyum (korelasyon) % 45 bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). 48. saatte her iki yöntem arasındaki korelasyon %52 ( $P < 0.01$ ) bulunmuştur. 24. ve 48. saatlere ait regresyon eğrileri şekil 1 ve 2 de verilmiştir.



Şekil 1. İn vivo ve 24 saat süre ile rumen sıvısındaki inkubasyonda elde edilen in vitro OMSD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi.



Şekil 2. İn vivo ve 48 saat süre ile rumen sıvısındaki inkubasyonda elde edilen in vitro OMSD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi.

#### Gübre-gaz tekniğine (ggt) ait deneme bulguları

Gübre-gaz tekniğine göre deneme yemlerine ait 24. ve 48. saatteki gaz oluşumları (GO) Tablo 5 de OMSD' leri Tablo 6 da verilmiştir.

Tablo 5. Yemlerin 24. 48. saatlerdeki inkubasyon sırası net GO miktarları

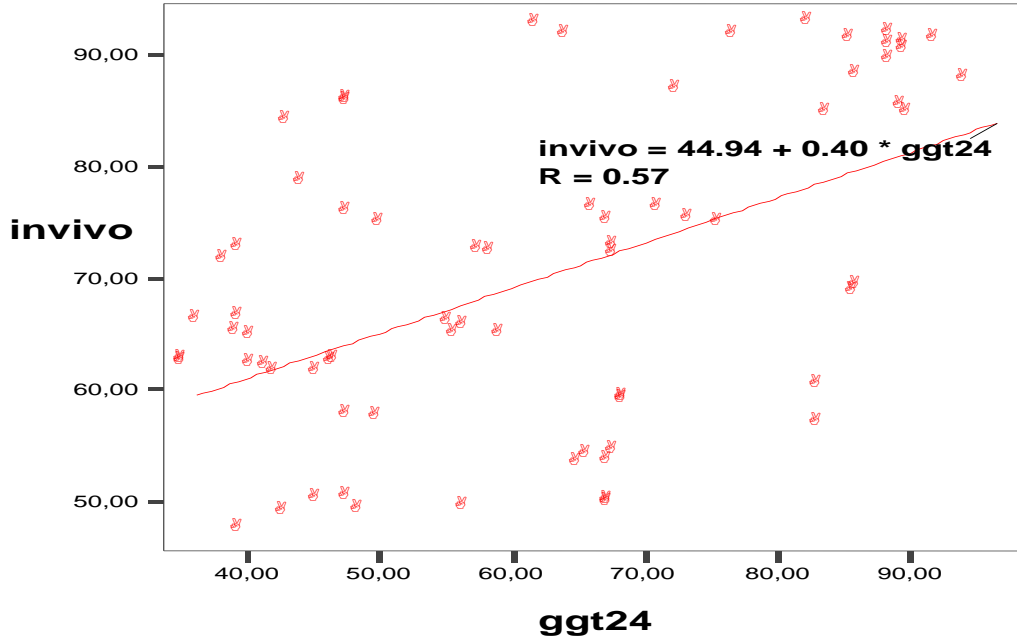
Yem	24.Net GO,ml /200 mg KM	$S_{\bar{x}}$	Min.	Max	48.Net GO,ml/200 mg KM	$S_{\bar{x}}$	Min	Max
BS	29.51	1.10	24.18	35.32	43.99	0.41	40.75	45.67
ÇKO	39.65	1.41	32.22	44.64	53.71	0.71	49.05	57.32
YKO	44.59	2.58	28.93	51.20	56.80	1.48	48.42	69.33
Arpa	72.68	1.73	64.34	81.64	78.68	2.09	67.08	86.62
Soya	37.65	1.04	31.26	43.54	42.96	0.88	36.29	46.77
PTK	21.42	1.25	15.43	28.06	33.21	1.20	26.65	38.71
SFK	50.12	0.92	46.83	56.31	56.27	1.08	48.92	63.02



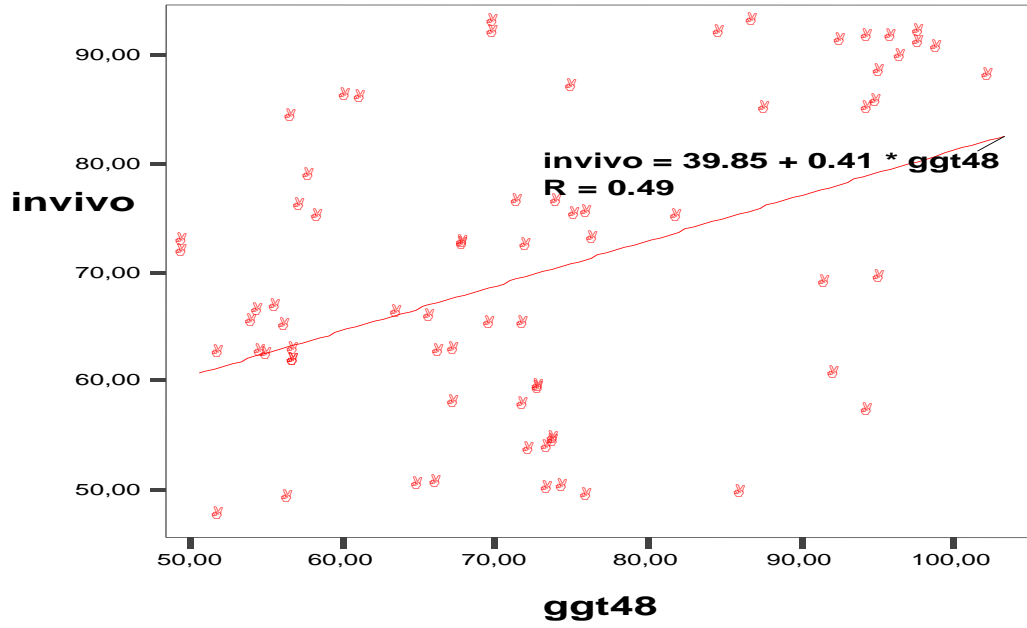
Tablo 6. İn vitro gübre-gaz tekniğine ait OMSD'leri

Yem	24.saat OMSD%	$\bar{S}_x$	Min.	Max.	48.saat OMSD%	$\bar{S}_x$	Min.	Max.
BS	41.52	1.11	36.12	47.40	56.20	0.42	52.91	57.88
ÇKO	55.03	1.42	47.51	60.09	69.27	0.72	64.56	72.93
YKO	62.09	2.61	46.23	68.79	74.46	1.50	65.97	87.16
Arpa	81.82	1.75	73.35	90.93	87.92	2.12	76.13	95.99
Soya	68.28	1.06	61.79	74.27	73.67	0.89	66.89	77.54
PTK	45.29	1.27	39.20	52.04	57.27	1.21	50.60	62.85
SFK	90.18	0.92	86.84	96.47	73.60	1.57	88.96	103.29

Tablo 5 ve 6 daki verilerden faydalanılarak hesaplanan 24. saatteki in vivo ve in vitro gübre-gaz tekniği arasındaki korelasyon %57 bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). 48. saatteki her iki yöntem arasındaki korelasyon %49 ( $P < 0.01$ ) bulunmuştur. 24. ve 48. saatlere ait regresyon eğrileri şekil 3 ve 4 de verilmiştir.

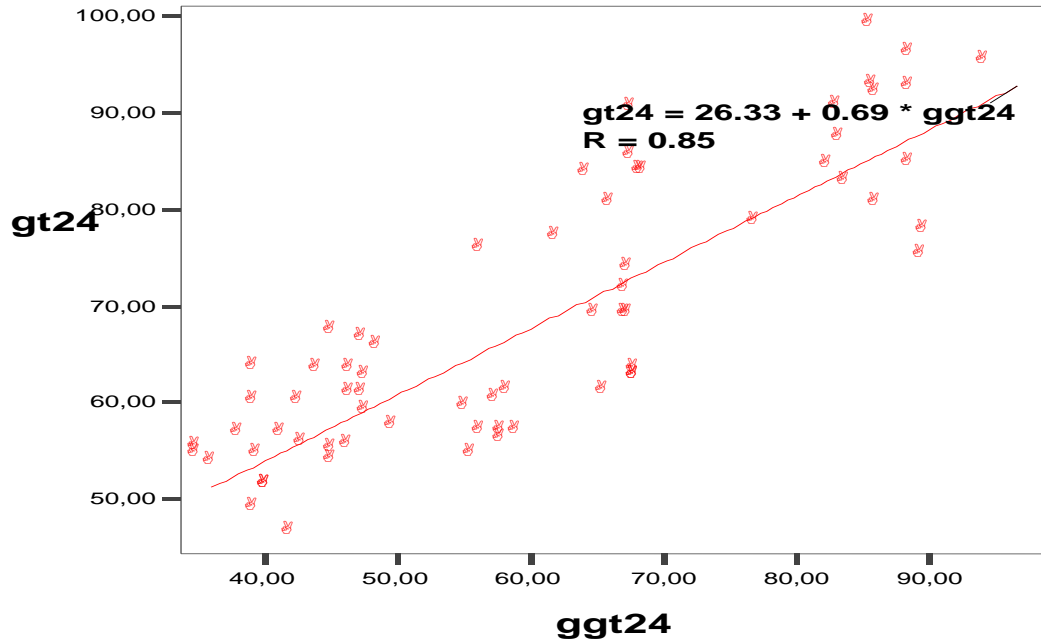


Şekil 3. İn vivo ve 24 saat süre ile gübre solusyonundaki inkubasyonda elde edilen in vitro OMSD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi.

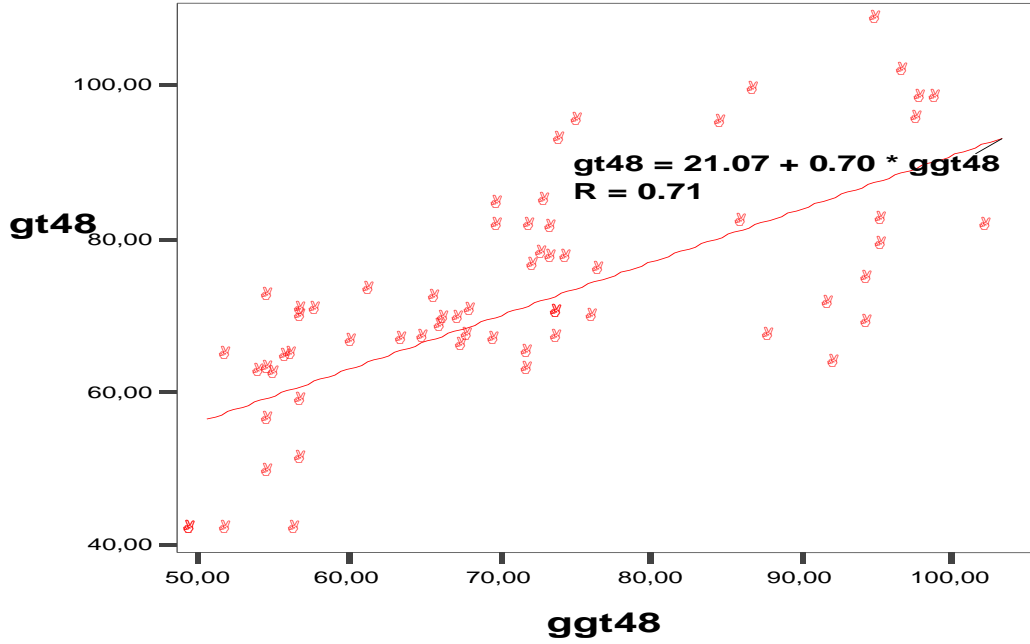


Şekil 4. İn vivo ve 48 saat süre ile gübre solusyonundaki inkubasyonda elde ilen in vitro OMSD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi.

İn vitro yöntemler (Gaz Testi ve Gübre – Gaz Tekniği) (gt-ggt) arasındaki uyum (korelasyon) 24. saat için % 85 (R=0.85) bulunmuştur (P<0.01). 48. saat için ise %71 (R= 0,71) bulunmuştur (P<0.01). Şekil 5 ve 6 da regresyon eğrileri verilmektedir.



Şekil 5. İn vitro gaz testi (gt) ve gübre-gaz tekniği (ggt) 24. saat inkubasyonunda elde edilen in vitro OMSD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi.



Şekil 6. İn vitro gaz testi (gt) ve gübre-gaz tekniği (ggt) 48. saat inkubasyonunda elde edilen in vitro OMSD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi.

Yemlerin in vivo ve in vitro deneme bulguları esas alınarak hesaplanan OMSD'leri birbirleri ile karşılaştırılmış ve aralarındaki ilişki incelenmiştir. İn vivo ve in vitro yöntemler arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla Tablo 7 düzenlenmiştir.

Tablo 7. Deneme yemlerinin in vivo ve in vitro (24 ve 48 saat süre ile inkubasyon) da elde edilen verilere göre OMSD leri

Yem	İN vivo OMSD%	S <sub>x</sub>	GT24.saat OMSD %	S <sub>x</sub>	GT48.saat OMSD %	S <sub>x</sub>	GGT24.Saat OMSD %	S <sub>x</sub>	GGT48.Saat OMSD %	S <sub>x</sub>
BS	63.38	0.60	52.98	0.86	61.08	1.96	41.52	1.11	56.20	0.42
ÇKO	64.52	1.74	58.73	0.80	67.04	0.88	55.03	1.42	69.27	0.72
YKO	51.32	0.81	66.84	1.23	72.84	1.71	62.09	2.61	74.46	1.50
Arpa	80.79	5.34	85.20	2.98	91.82	3.53	81.82	1.75	87.92	2.12
Soya	74.84	3.73	82.18	1.82	83.46	1.77	68.28	1.05	73.67	0.88
PTK	72.39	4.69	59.78	0.99	67.43	1.59	45.29	1.27	57.27	1.21
SFK	85.68	3.77	88.77	2.47	95.66	2.11	90.18	0.93	96.42	1.09

## Tartışma

### İN Vitro Gaz Testi (HFT) Bulguları İle İlgili Tartışmalar

ÇKO'na ait 24. saat GO 40,09 ml, OMSD % 58,72 olarak saptanmıştır. Çalışmaya ait bulgular Öğretmen (1991) ve Şeker (1994)'e ait bulgulardan yüksek; Steingass (1983), Abaş ve ark. (2005)'nin bulgularından düşük bulunmuştur. YKO'na ait GO 46,66 ml, OMSD<sub>i</sub> %66,84 değerleri olarak saptanmıştır. Öğretmen (1991), Şeker (1994), Hamid ve ark. (2007)'nin bildirişlerinden yüksek; Steingass (1983), Abaş ve ark.

(2005)'nın bildirişleriyle benzer bulunurken; Canbolat ve ark. (2013), Aghajanzadeh-Golshani ve ark. (2014)'nın bildirişlerinden düşük bulunmuştur. ÇKO ve YKO'nun GO ve OMSD<sub>i</sub>'leri diğer yemlere göre daha düşüktür. Bunun sebebi içerdikleri hücre çeperi bileşenlerinin (ADF ve NDF) yüksek olmasıdır. Yüksek hücre çeperi bileşenleri ve lignin, rumen mikroorganizmalarının yem partiküllerine etkisini sınırlandırmakta ve dolayısıyla da gaz oluşumuna olumsuz etkide bulunmaktadır (McAllister ve ark, 1994; Frustos ve ark., 2002; Hamid ve ark., 2007). YKO ve ÇKO'na ait GO ve OMSD<sub>i</sub>'nin literatür bildirişleri ile farklılık göstermesi yemlerin besin madde içerikleri ve rumen sıvısı alınan hayvana verilen rasyonun besin madde içeriğindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Canbolat ve ark., 2013). Buğday samanının 24. saatte GO/ 200 mg KM'de 37,09 ml, OMSD<sub>i</sub> %52,98 olarak saptanmıştır. Steingass (1983), Öğretmen (1991), Şeker (1994)'in bulgularından yüksek; Abaş ve ark. (2005)'nin bulgusundan düşük bulunmuştur. Arpaya ait GO 72,45 ml ve OMSD<sub>i</sub> %85,20 olarak belirlenmiştir. Öğretmen (1991), Şeker (1994), Abaş ve ark. (2005)'nin bulgularından yüksek; Steingass (1983) 'a ait bulgudan ise düşük bulunmuştur. Arpa ve buğday samanına ait GO'ları yemlerin içerdiği karbonhidratların kısa zincirli yağ asitlerine fermente olmasıyla alkalıdır. Gaz oluşum oranı mikroorganizmaların hızlı çoğalmaları ve yem partiküllerini sindirmeleriyle alkalıdır. GO'ları arasındaki farklılıklar yemlerin fermente edilen besin madde içeriklerinden kaynaklanmaktadır (Abaş ve ark. 2005; Aghajanzadeh-Golshani 2014). 44,27 ml GO ve %82,18 OMSD<sub>i</sub>'ği saptanan soya (Steingass, 1983; Şeker, 1994) literatür bildirişlerinden yüksek bulunmuştur. Soyanın sahip olduğu yüksek protein içeriğinin gaz oluşumu üzerine etkisi bulunmamaktadır (Hamid ve ark. 2007). OMSD<sub>i</sub> ve GO değerleri ile literatür değerleri arasındaki farklılık yemlerin besin madde kompozisyon farklılıklarından ileri gelmektedir. PTK'ne ait GO 23,99 ml, OMSD<sub>i</sub> %59,78 olarak saptanmıştır. Bulgular Steingass (1983), Öğretmen (1991) ve Şeker (1994)'in bulgularından düşük bulunmuştur. Bildirişlerdeki GO ve OMSD içerikleri arasındaki farklılıklar yemin içerdiği besin madde kompozisyonu ve küspenin elde edilmesinde uygulanan metod farklılıklarından kaynaklanmaktadır (Hamid ve ark. 2007). Soya fasülyesi küspesinin GO ve OMSD (45,07ml, %88,77) içerikleri Şeker (1994), Hamid ve ark. (2007), Gülsen ve ark. (2015)'nin bildirişlerinden yüksek; Steingass (1983)'ın bildirişinden düşük saptanmıştır. Yıkılabilir nitrojen, mikrobiyal aktiviteyi sınırlandırmamakla birlikte karbonhidrat fraksiyonlarının parçalanmasına yol açmaktadır (Gasmi-Boubaker ve ark., 2005). Bildirişlerdeki GO ve OMSD içerikleri arasındaki farklılıklar yemin içerdiği besin madde kompozisyonu ve küspenin elde edilmesinde uygulanan metod farklılıklarından kaynaklanmaktadır (Hamid ve ark., 2007).

### *İn Vitro Gübre-Gaz Tekniğine Ait Bulgular İle İlgili Tartışmalar*

Araştırmada kullanılan yem materyallerine ait in vitro gübre gaz tekniği 24. Saat GO ve OMSD<sub>i</sub> verilerine ait sınırlı literatür bildirişi bulunmaktadır. Deneme yemlerinden buğday samanına ait 24. saatteki gaz oluşumu 29,51 ml olarak saptanmıştır. Aiple (1993) 'ın bulgusundan yüksek bulunmuştur. Buğday samanına ait GO'ları yemlerin içerdiği karbonhidratların kısa zincirli yağ asitlerine fermente olmasıyla alkalıdır. Gaz oluşum oranı mikroorganizmaların hızlı çoğalmaları ve yem partiküllerini sindirmeleriyle alkalıdır. GO'ları arasındaki farklılıklar yemlerin fermente edilen besin madde içeriklerinden kaynaklanmaktadır (Abaş ve ark., 2005; Golshani-Aghajanzadeh, 2014). Yonca kuru otuna ait 44,59 ml GO Aghajanzadeh-Golshani ve ark. (2015)'nin bildirişlerinden düşük saptanmıştır. %62,09 OMSD<sub>i</sub> değeri Cilliers ve ark. (1997), Bovera

ve ark. (2007)'nin bulgularından yüksek; Bovera ve ark. (2011)'larıyla Aghajanzadeh-Golshani ve ark. (2014)'nin bildirişlerinden düşük bulunmuştur. ÇKO'na ait 39,65 ml GO Aiple (1993)'nin bulgusundan düşük bulunmuştur. ÇKO ve YKO'nun GO ve OMSD<sub>i</sub>'leri diğer yemlere göre daha düşüktür. Bunun sebebi içerdikleri hücre çeperi bileşenlerinin (ADF ve NDF) yüksek olmasıdır. Yüksek hücre çeperi bileşenleri ve lignin rumen mikroorganizmalarının yem partiküllerine etkisini sınırlandırmakta ve dolayısıyla da gaz oluşumuna olumsuz etkide bulunmaktadır (McAllister ve ark., 1994; Frustos ve ark., 2002; Hamid ve ark., 2007). YKO ve ÇKO'na ait GO ve OMSD'nin literatür bildirişleri ile farklılık göstermesi yemlerin besin madde içerikleri ve gübresi alınan hayvana verilen rasyonun besin madde içeriğindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Canbolat ve ark. 2013). Arpa'ya ait 72,68 ml GO Aiple (1993)'in bulgusundan yüksek bulunmuştur. % 81,82 olarak saptanan OMSD<sub>i</sub>; Cilliers ve ark. (1997)'nin bildirişiyle benzer bulunmuştur. Arpa'ya ait GO'yu yemlerin içerdği karbonhidratların kısa zincirli yağ asitlerine fermente olmasıyla alakalıdır. Gaz oluşumu oranı mikroorganizmaların hızlı çoğalması ve yem partiküllerini sindirmeleriyle alakalıdır. OMSD<sub>i</sub> ve GO'ları arasındaki farklılıklar yemlerin fermente edilen besin madde içeriklerinden kaynaklanmaktadır (Abaş ve ark. 2005; Golshani-Aghajanzadeh, 2014). Soya fasülyesi küspesinin GO değeri 50,12 ml olarak saptanmıştır. Aiple (1993)'in bildirişinden yüksek bulunmuştur. Yıkılabilir nitrojen mikrobiyal aktiviteyi sınırlandırmamakla birlikte karbonhidrat fraksiyonlarının parçalanmasına yol açmaktadır (Gasmi-Boubaker ve ark., 2005). Bildirişlerdeki GO'ları arasındaki farklılıklar yemin içerdği besin madde kompozisyonu ve küspenin elde edilmesinde uygulanan metod farklılıklarından kaynaklanmaktadır (Hamid ve ark., 2007).

## **Sonuç**

Bu çalışma sonucunda koyun gübresinin yemlerin organik besin madde sindirim derecelerinin belirlenmesinde in vitro gaz testinde kullanılan rumen sıvısına alternatif olabileceği saptanmıştır. İn vitro gaz testinde taze koyun gübresinin kullanımının yaygınlaştırılmasıyla fistül kanüllü hayvana gereksinim duyulmayacağından ekstra sağlık ve bakım giderleride olmayacaktır. Dolayısıyla da iş gücü ve parasal olarak tasarruf sağlanacaktır. Ancak ülkemiz açısından taze koyun gübresi kullanımı önerisinin yapılabilmesi için çok sayıda farklı yemlere ait saptanmış organik madde sindirim derecesi içeriklerine gereksinim vardır.

## **Açıklama**

Bu araştırma Sevilay Gül'ün doktora tezinden üretilmiştir.

## **Teşekkür**

Tez projesine maddi desteklerinden dolayı YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkür ederim.

## **Kaynaklar**

Abaş, İ., Özpınar, H., Kutay, H. C., Kahraman, R. (2005). Determination of the metabolizable Energy (ME) and net energy lactation (NEL) contents of some

- feeds in the Marmara region by in vitro gas technique. *Turk J.Vet.Anim. Sci.* 29, 751-757.
- Aghajanzadeh-Golshani A., Maheri-sis N, Doust-Nobar R. S., Ebrahimnezhad, Y., Ghorbani, A. (2014). Comparing fermentation kinetics and nutritional value of alfalfa hay using rumen and faeces liquor as inocula for in vitro gas production technique. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 5(3), 308-315.
- Aghajanzadeh-Golshani A., Maheri-sis N, Doust-Nobar R. S., Ebrahimnezhad, Y., Ghorbani, A. (2015). Developing a modified in vitro gas production technique to replace the nylon bag method of evaluating protein degradation of alfalfa hay in ruminants. *Iranian Journal of Applied Animal Science.* 5(2), 339-345.
- Aiple, P. K., Steingass, H., Menke, K. H. (1992). Suitability of a Buffered Faecal Suspension as the Inoculum in the Hohenheim Gas Test. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 67, 57-66, Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin. ISSN 0931-2439.
- Aiple, K. P. (1993). *Vergleichende Untersuchungen Mit Pansensaft Und Kot Als Inokulum Im Hohenheimer Futterwerttest.* (Dissertation). Aus dem für Tierernährung der Universität Hohenheim, Stuttgart.
- Bovera, F., Marono, S, Di Meo, C., Iannaccone, F., Attia, Y. A., Nizza, A. (2011). Comparison of caecal and faeces fermentation characteristics of ostrich by in vitro gas production technique. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science.* 61, 72-79
- Bovera, F., D'Urso, S., Calabro`, S., Tudisco, R., Di Meo, C., Nizza, A. (2007). Use of faeces as alternative inoculum to caecal content to study the in vitro feed digestibility in domesticated ostriches (*Struthio camelus* var. domesticus). *British Poultry Science*, 48, 354-362.
- Bulgurlu, Ş., Ergül, M. (1978). *Yemlerin Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Analiz Metodları.* E.Ü.Z.F. Yayın, No:127.
- Blümmel, M., Ørskov, E. R. (1993). Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting of food intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology* 40, 109-119.
- Canbolat, Ö., Kara, H., Filya,İ. (2013). Bazı baklagil kaba yemlerinin in vitro gaz üretimi, metabolik enerji, organik madde sindirimi ve mikrobiyal protein üretimlerinin karşılaştırılması. *U.Ü.Ziraat Fakültesi dergisi*, 27( 2), 71-81.
- Cilliers, S. C., Hayes, J. P., Chwalibog, A., Du Preez, J. J., Sales, J. (1997). A comparative study between mature ostriches (*Struthio camelus*) and adult cockerels with respect to true and apparent metabolisable energy values for maize, barley, oats and triticale. *British Poultry Science*, 38, 96-100.
- DLG, 1981. *Methode zur Schätzung Des NEL-Gehaltes im Milchleistungsfutter.* DLG-Forschungsbericht Nr.5338022, 2. Aufl. 1983, 1.Aufl.
- El Shaer, M. H., Omed, M. H., Chamberlain, G. A. (1987). Use of Faecal Organisms from Sheep for the In Vitro Determination of Digestibility. *The Journal of Agricultural Science* 109(2), 257-259.
- Ergül, M. (1988). *Yemler Bilgisi ve Teknolojisi.* E.Ü.Z.F.Yayın No:487, İzmir. ISBN 975-483-017-7.
- Frutos, P., Hervas G., Ramos G., Giraldez F. J., Montecon A. R. (2002). Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain and its relationship to various indicators of nutritive value. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 95, 215-226.

- Gasmi-Boubaker, A., Kayouli, C., Buldgen, A. (2005). In vitro gas production and its relationship to in situ disappearance and chemical composition of some Mediterranean browse species. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 123-124, 303-311.
- Gülşen, N., Umucalılar, H. D., Hayırlı, A., Alataş, M. S. (2015). Utilization of Cryopreserved ruminal fluid in in vitro gas production technique for evaluating energy and digestibility values of feedstuffs. *2<sup>nd</sup> International Conference on Sustainable Agriculture and Environment (2<sup>nd</sup> ICSAE)* September 30-October 3, Konya, Turkey.
- Hamid, P., Akbar, T., Hossein, J., Ali, M. G. (2007). Nutrient digestibility and gas production of some tropical feeds used in ruminant diets estimated by the in vivo and in vitro gas production techniques. *American journal of Animal and Veterinary Sciences* 2(4), 108-113.
- Khazaal, K., Dentinho M. T., Ribeiro J. M., Ørskov E. R. (1993). A comparison of gas production during incubation with rumen contents in vitro and nylon bag degradability as predictors of apparent digestibility in vivo and the voluntary intake of hats. *Animal Production* 57, 105- 112
- Kılıç, A. (1985). *Hayvan Besleme (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri)*. TÜBİTAK, Yayın No: 611, VHAG Seri No: 21, Ankara.
- Kılıç, A., Ergül, M., Sevgican, F. (1986). Hayvancılıkta Yem ve Hayvan Besleme Sorunları. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Batı Akdeniz Bölgesi *I.Hayvancılık Semineri*, 26-28 Kasım Antalya
- Kılıç, A. (1987). Yem Enerji İçeriğinin Hesaplanmasında Yararlanılan Eşitlikler. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 26, 34-39
- Kılıç, A. (1988). *Yemler ve Hayvan Besleme (Uygulamalı El Kitabı)*. Bilgehan Basımevi. Bornova-İzmir 533.
- McAllister, T. A., Bae H. D., Jones G. A., Cheng L. J. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Dairy Sci.* 72, 3004-3018
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. (1979). The Estimation of the Digestibility and Metabolizable Energy Content of Ruminant Feedingstuffs from the Gas Production When They are Incubated with Rumen Liquor In Vitro, *J. Agric. Sci. Camb.*, 93, 217-222.
- Öğretmen, T. (1991). *Gevişgetirenlerin Beslenmesinde Kullanılan Bazı Önemli Yemlerin NEL İçeriklerinin In Vivo ve In Vitro Yöntemleri İle Saptanması*. (doktora tezi, basılmamış), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı. Bornova-İZMİR.
- SAS, (1998). Sas/Stat Software: Hangen and Enhanced. SAS, Inst. Inc., USA.
- Steingass, H. (1983). *Bestimmung Des Energetischen Futterwertes Von Wirtschaftseigenen Futtermitteln aus der Gasbildung Bei der Pansenfermentation in vitro*. (Dissertation), Univ. Hohenheim.
- Şeker, E. (1994). Ruminant Beslemede Kullanılan Yemlerin Enerji Değerlerinin Sindirim Denemesi ve Gaz-Testi İle Belirlenmesi. TÜBİTAK Proje No: VHAG-884. Konya.
- Van Soest, P. J. (1967). Development of a Comprehensive System of Feed Analysis and its Application to Forages. *Journal of Animal Science*, 26, 119-128
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2nd Ed.). p.28. N Cornell University Press. Ithaca, N.Y.