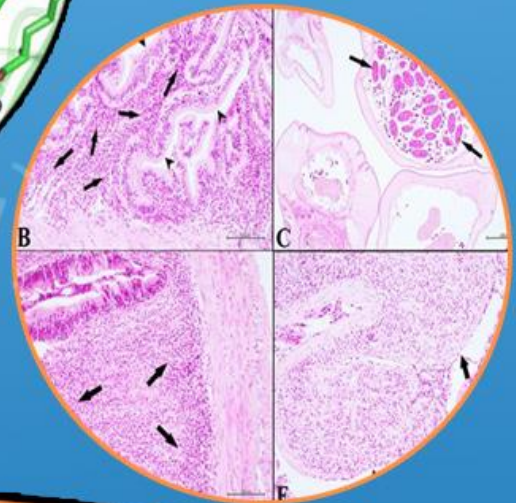
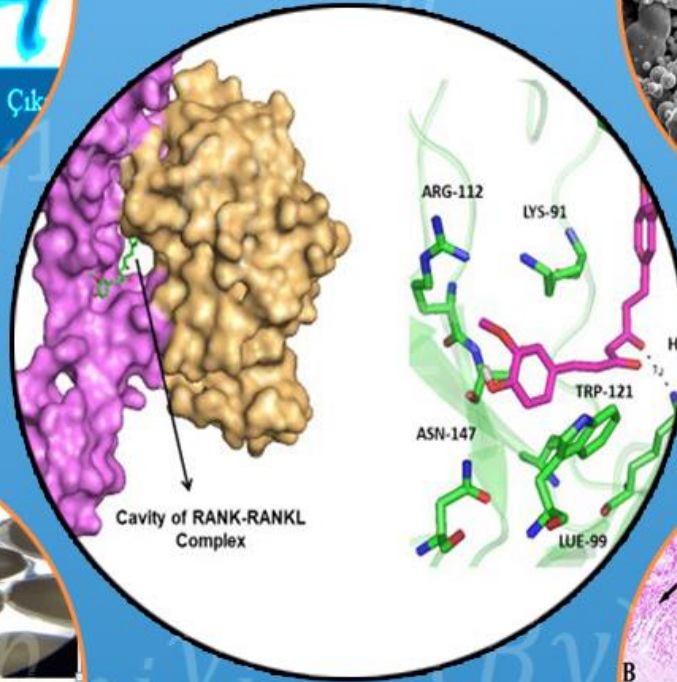
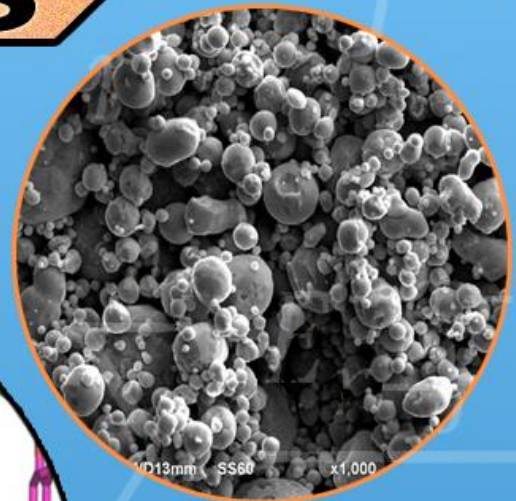
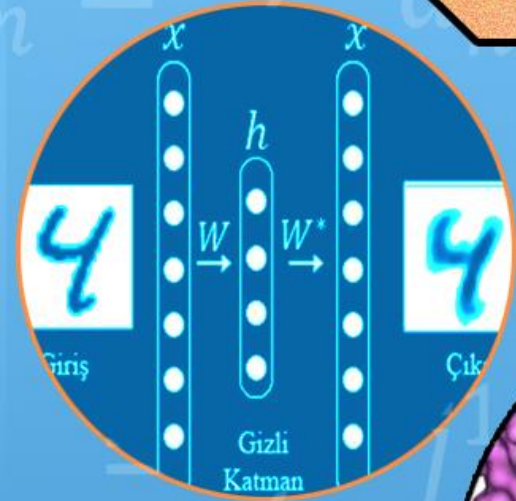


TDFD

TÜRK DOĞA ve FEN DERGİSİ

TURKISH JOURNAL OF NATURE AND SCIENCE

TJNS



TÜRK DOĞA VE FEN DERGİSİ

Amaç

Türk Doğa ve Fen Dergisi, Dergipark tarafından yayınlanan Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne ait ulusal ve hakemli bir dergidir. Türk Doğa ve Fen Dergisi, Türkiye ve dünyanın her yerinden gelen doğa ve fen bilimlerinin her alanında özgün, yayımlanmamış, yayımlanmak üzere başka yere gönderilmemiş makale, derleme ve sempozyum değerlendirmesi gibi çalışmaların bilim alemine sunulması amacıyla kurulmuştur.

Kapsam

Türk Doğa ve Fen Dergisinde Mühendislik, Ziraat, Veterinerlik, Fen ve Doğa Bilimleri alanlarından olmak üzere Türkçe ve İngilizce hazırlanmış orijinal makale, derleme ve sempozyum değerlendirmesi gibi çalışmalar yayımlanır. Türk Doğa ve Fen Dergisi sadece online sistemde yayımlanmakta olup ayrıca kağıt baskısı bulunmamaktadır.

Merhaba...

Türk Doğa ve Fen Dergisi, Dergipark tarafından yayımlanmakta olup Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne aittir. Bahar ve güz dönemi olmak üzere yılda iki defa çıkarılan ulusal hakemli bir dergi olarak ilk sayısını 2012 bahar döneminde yayımlamıştır. Türk Doğa ve Fen Dergisi, Türkiye ve dünyanın her yerinden gelen doğa ve fen bilimlerinin her alanında özgün, yayımlanmamış, yayımlanmak üzere başka yere gönderilmemiş makale, derleme ve sempozyum değerlendirmesi gibi çalışmaların bilim alemine sunulması amacıyla kurulmuştur. İlk sayısından bugüne kesintisiz olarak faaliyetlerini sürdürmektedir.

Türk Doğa ve Fen Dergisi sadece online sistemde yayımlanmakta olup ayrıca kağıt baskısı bulunmamaktadır. Dergimize gelen her çalışma öncelikle Turnitin intihal programında taranmaktadır. Dergimizde editörlerin, hakemlerin ve yazarların, uluslararası yayım etik kurallarına uyması ve makalelerin yazım kurallarına uyumlu olması zorunluluğu vardır.

Yazarlar yayımlanmak üzere dergimize gönderdikleri çalışmalarını ile ilgili telif haklarını zorunlu olarak Bingöl Üniversitesi Türk Doğa ve Fen Dergisi'ne devretmiş sayılırlar. Yazarlardan herhangi bir ücret talep edilmemektedir. Yazarların değerlendirmeleri, dergimizin resmi görüşü olarak kabul edilemez. Çalışmaların her türlü sorumluluğu yazarlarına aittir. Araştırma ürünleri için etik kurul raporu gerekli ise, çalışma üzerinde bu raporun alınmış olduğu belirtilmeli ve kurul raporu sisteme kaydedilmelidir. Araştırma ile ilgili intihal, atıf manipülasyonu, sahte veri uydurma vb. suistimallerin tespit edilmesi halinde yayım ve etik ilkelerine göre davranılır. Bu durumda çalışmanın yayımlanmasını önlemek, yayımdan kaldırmak ya da başka işlemler yapmak için gerekli işlemler takip edilmektedir.

Dergimizde, kaynak gösteriminde uluslararası Vancouver sistemine geçilmiştir. Ayrıca dergimiz, Creative Commons ile lisanslanmak suretiyle dergimizde yayımlanan makalelerin paylaşımı, kaynak gösterimi ve yayımlanmasında dergi ve yazar haklarını korumaya almıştır. 2018 yılı güz döneminden itibaren makaleler, uluslararası yazar kimlik numarası ORCID No'su ile yayımlanmaktadır.

Dergi ekibi, dergimizin ulusal ve uluslararası indekslerce taranan bir dergi olması yönünde çalışmalarını titizlikle sürdürmektedir. Dergimize gösterilen ilgi bu yönde bizleri teşvik etmeye devam edecektir.

Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından yayımlanmaktadır

EDİTÖRLER (YAYIN) KURULU

BAŞEDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi Ekrem DARENDELİOĞLU

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Bölümü

E-Mail: edarendelioglu@bingol.edu.tr

EDİTÖR YARDIMCISI

Dr. Öğr. Üyesi Adnan AYNA

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

E-Mail: aayna@bingol.edu.tr

EDİTÖRLER

Fen ve Doğa Bilimleri

Doç. Dr. İkram ORAK

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve
Teknikler

E-Mail: iorak@bingol.edu.tr

Prof. Dr. Selami SELVİ

Balıkesir Üniversitesi, Altınoluk Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal
Üretim Bölümü

E-Mail: sselvi2000@yahoo.com

Prof. Dr. Refik KESKİN

Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü

E-Mail: rkeskin@sakarya.edu.tr

Prof. Dr. Halim ÖZDEMİR

Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü

E-Mail: hozdemir@sakarya.edu.tr

Doç. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU

Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu, Bitki Morfolojisi
ve Anatomisi Bölümü

E-Mail: ucakilcioglu@yahoo.com

Doç. Dr. Zafer ŐIAR

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakóltesi, Matematik Bölümü
E-Mail: zsiar@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Kamuran DİLSİZ

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakóltesi, Fizik Bölümü
E-Mail: kdilsiz@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Őukran KONCA

Bakırçay Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakóltesi, Temel Bilimler,
Matematik Bölümü
E-Mail: sukran.konca@bakircay.edu.tr

Doç. Dr. İdris YAZGAN

Kastamonu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakóltesi, Biyoloji
E-Mail: idrisyazgan@gmail.com

Dr. Öğr. Üyesi Abdulcabbar YAVUZ

Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakóltesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği
E-Mail: ayavuz@gantep.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Şükrü KURT

Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakóltesi, Temel Bilimler
E-Mail: mustafa.kurt@erzurum.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Sinan SAĞIR

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fizik
E-Mail: sinansagir@kmu.edu.tr / sinan.sagir@cern.ch

Dr. Öğr. Üyesi Murat AYDEMİR

Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakóltesi, Temel Bilimler
E-Mail: murat.aydemir@erzurum.edu.tr

Mühendislik Bilimleri

Dr. Öğr. Üyesi Özgür ÖZGÜN

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü
E-Mail: oozgun@bingol.edu.tr

Prof. Dr. Figen KOREL

İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: figenkorel@iyte.edu.tr

Prof. Dr. Kubilay ASLANTAŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü
E-Mail: aslantas@aku.edu.tr

Prof. Dr. Hamit Özkan GÜLSOY

Marmara Üniversitesi Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği
Bölümü
E-Mail: ogulsoy@marmara.edu.tr

Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU

İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: adnan.hayaloglu@inonu.edu.tr

Doç. Dr. İbrahim GÜNEŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme
Mühendisliği Bölümü
E-Mail: gunes@aku.edu.tr

Doç. Dr. Sırma YEĞİN

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: sirma.yegin@ege.edu.tr

Doç. Dr. Hasan OĞUL

Sinop Üniversitesi, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi, Nükleer Enerji
Mühendisliği
E-Mail: hogul@sinop.edu.tr

Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: murat.yilmaztekin@inonu.edu.tr

Doç. Dr. Ferhat AYDIN

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, İnşaat
Mühendisliği Bölümü

E-Mail: ferhata@subu.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR

Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü

E-Mail: ndemir@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Kazım HANBAY

Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği
Bölümü

E-Mail: khanbay@bingol.edu.tr

Dr. Erhan Sulejmani

University of Tetova, Faculty of Food Technology and Nutrition

E-Mail: erhan.sulejmani@unite.edu.mk

Dr. Hacène Medjoudj

Larbi Ben M'Hidi University of Oum El Bouaghi, Food Science Department

E-Mail: medjoudjh@yahoo.com

Sağlık Bilimleri

Doç. Dr. Aydın Şükrü BENGÜ

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve
Teknikler

E-Mail: abengu@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Dilhun Keriman ARSERİM UÇAR

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

E-Mail: dkucar@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Abdullah TUNÇ

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü

E-Mail: atunc@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜNDOĞDU

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri
E-Mail: rgundogdu@bingol.edu.tr

Dr. Alexander HERGOVICH

UCL Cancer Institute, Department of Cancer Biology, Faculty of Medical Sciences,
UCL, London, UK
E-Mail: a.hergovich@uc.ac.uk

Dr. Valenti GOMEZ

UCL Cancer Institute, Department of Oncology, Faculty of Medical Sciences,
UCL, London, UK
E-Mail: valentin.gomez@ucl.ac.uk

Veterinerlik Bilimleri

Doç. Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN

Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü
E-Mail: ccaglayan@bingol.edu.tr

Prof. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Temel Bilimler
E-Mail: fmehmet.kandemir@atauni.edu.tr

Doç. Dr. Akin KIRBAŞ

Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü
E-Mail: akindahiliye55@yahoo.com

Doç. Dr. Emrah Hicazi AKSU

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü
E-Mail: emrahaksu@atauni.edu.tr

Ziraat Bilimleri

Prof. Dr. Kağan KÖKTEN

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü
E-Mail: kahafe1974@yahoo.com

Prof. Dr. Mustafa SÜR MEN

Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü
E-Mail: mustafa.surmen@adu.edu.tr

Prof. Dr. Banu YÜCEL

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı, Zoote kni
Bölümü
E-Mail: banu.yucel@ege.edu.tr

Doç. Dr. Hakan İNCİ

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zoote kni Bölümü
E-Mail: hinci@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Rıdvan POLAT

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı
E-Mail: rpolat@bingol.edu.tr

TEKNİK EDİTÖRLER

Öğr. Gör. Mücahit ÇALIŞAN

Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bilgisayar Teknolojileri
E-Mail: mcalisan@bingol.edu.tr

Arş. Gör. Eray ÇALIŞKAN

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
E-Mail: ecaliskan@bingol.edu.tr

Arş. Gör. Ersin KARAKAYA

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü
E-Mail: karakayaersin1982@gmail.com

Öğr. Gör. Muhammed Zekeriya GÜNDÜZ

Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bilgisayar Teknolojileri
E-Mail: mzgunduz@bingol.edu.tr

DİL EDİTÖRÜ

Öğr. Gör. Ahmet KESMEZ

Bingöl Üniversitesi, Yabancı Diller Yüksekokulu, İngilizce Bölümü
E-Mail: akesmez@bingol.edu.tr



İÇİNDEKİLER/CONTENTS

Biological Evaluation of Curcumin As a Natural RANKL Inhibitor in Osteosarcoma - Research Article

Kurkumin'in Osteosarkomada Doğal RANKL İnhibitörü Olarak Biyolojik Değerlendirilmesi - Araştırma Makalesi

Aykut ÖZGÜR^{1*}

¹ Tokat Gaziosmanpaşa University, Artova Vocational School, Department of Veterinary Medicine, Laboratory and Veterinary Health Program, Tokat, Turkey

1

Aykut ÖZGÜR ORCID No: 0000-0002-4457-1249

*Sorumlu yazar: aykut.ozgur@gop.edu.tr

(Alınış: 22.04.2020, Kabul: 12.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Toz Enjeksiyon Kalıplama Yöntemi ile Üretilen FeCo Alaşımlarının Mikroyapı ve Mekanik Özelliklerinin Araştırılması - Araştırma Makalesi

Investigation of Microstructure and Mechanical Properties of FeCo Alloys Produced through Powder Injection Molding Method - Research Article

Özgür ÖZGÜN^{1,2}, Hamit Özkan GÜLSOY^{3*}

¹ Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

³ Marmara Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, 34722 İstanbul, Türkiye

Özgür ÖZGÜN ORCID No: 0000-0003-3816-6746

Hamit Özkan GÜLSOY ORCID No: 0000-0001-5366-5741

*Sorumlu yazar: ogulsoy@marmara.edu.tr

(Alınış: 18.03.2020, Kabul: 14.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

6

Ratlarda Kadmiyum Kaynaklı Mide Toksisitesine Karşı Karvakrol'un Etkileri - Araştırma Makalesi

Effects of Carvacrol Against Cadmium-Induced Stomach Toxicity in Rats - Research Article

Sefa KÜÇÜKLER^{1*}, Selçuk ÖZDEMİR², Fatih Mehmet KANDEMİR¹, Cüneyt ÇAĞLAYAN³

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

³ Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Bingöl, Türkiye

Sefa KÜÇÜKLER ORCID No: 0000-0002-8222-5515

Selçuk ÖZDEMİR ORCID No: 0000-0001-7539-0523

Fatih Mehmet KANDEMİR ORCID No: 0000-0002-8490-2479

Cüneyt ÇAĞLAYAN ORCID No: 0000-0001-5608-554X

*Sorumlu Yazar: sefa.kucukler@atauni.edu.tr

(Alınış: 10.04.2020, Kabul: 14.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

12

Compton Scattering Measurements of Ar and O₂ Using 59.54 keV Gamma-rays - Research Article

59.54 keV'lik Gama-ışınları Kullanılarak Ar ve O₂'nin Compton Saçılma Ölçümleri - Araştırma Makalesi

Erdem ŞAKAR^{1*}, Ali GÜROL¹

¹Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Erzurum, Türkiye

Erdem ŞAKAR ORCID No: 0000-0002-1359-4464

Ali GÜROL ORCID No: 0000-0001-9494-3533

19

*Corresponding author: erdem@atauni.edu.tr

(Alınış: 09.04.2020, Kabul: 19.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Elazığ Karakoçan Yöresi Buzacağı ve Danalarında Eimeria Türlerinin Yaygınlığı - Araştırma Makalesi

The Prevalence of Eimeria Species in Calves in Elazığ Karakoçan Region - Research Article

Yunus ESEN^{1*}, Ahmet BOZDAĞ²

¹Bingöl Üniversitesi, Solhan Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü, Bingöl, Türkiye.

²Karakoçan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Elazığ, Türkiye

Yunus ESEN ORCID No: 0000-0002-6231-1467

Ahmet BOZDAĞ ORCID No: 0000-0002-2995-4137

24

*Sorumlu yazar: yesen@bingol.edu.tr

(Alınış: 27.03.2020, Kabul: 19.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Bingöl Koşullarında Karabuğday Çeşitlerinde Ekim Zamanının Ot Verimi Ve Kalitesi Üzerine Etkileri - Araştırma Makalesi

Effects of Sowing Time on Herbage Yield and Quality in Buckwheat Varieties under Bingöl Conditions - Research Article

Remziye ALKAY¹, Kağan KÖKTEN^{2*}

¹Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri ABD, 12000 Bingöl, Türkiye

²Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

Remziye ALKAY ORCID No: 0000-0002-0714-7633

Kağan KÖKTEN ORCID No: 0000-0001-5403-5629

29

*Sorumlu yazar: e-posta: kkokten@bingol.edu.tr

(Alınış: 17.03.2020, Kabul: 19.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Screening for Mutations in the Coding Regions Of PSEN1 Gene, 16-17 Exons Of APP Gene and APOE Genotyping in Patients with Alzheimer's Disease - Research Article

Alzheimer Hastalarında PSEN1 Geni Kodlayan Bölgelerinde ve APP Geni 16-17. Ekzonlarında Mutasyon Taraması ve APOE Genotiplendirmesi - Araştırma Makalesi

Tugce KARADUMAN^{1*}, Erdal EROGLU², Emel SAGLAR OZER¹, Beril ERDEM TUNCDEMİR¹, Hatice MERGEN¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, Hacettepe University, Ankara, Turkey

²Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, Ankara, Turkey

Tugce KARADUMAN ORCID No: 0000-0003-0728-0968

Erdal EROGLU ORCID No: ORCID-ID: 0000-0002-0412-8998

Emel SAGLAR OZER ORCID No: 0000-0002-8161-827X

Beril ERDEM TUNCDEMİR ORCID No: 0000-0002-9820-1147

Hatice MERGEN ORCID No: 0000-0002-7980-8197

35

*Corresponding author: tugcekaraduman@hacettepe.edu.tr

(Alınış: 02.04.2020, Kabul: 25.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Cilt Lezyon Bölütlemesi için Metasezgisel Temelli Otsu Eşikleme Yöntemi - Araştırma Makalesi

Metaheuristic Based Otsu Thresholding Method for Skin Lesion Segmentation - Research Article

Nurullah ŞAHİN¹, Nuh ALPASLAN^{2*}

¹ İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Bingöl, Türkiye

Nurullah ŞAHİN ORCID No: 0000-0002-3578-9959

Nuh ALPASLAN ORCID No: 0000-0000-6828-755X

*Sorumlu yazar: nuhalpaslan@gmail.com

(Alınış: 01.04.2020, Kabul: 27.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

BREEAM Sertifikalı Bir Eğitim Binasının Yapım Maliyetinin Geleneksel Yapım Maliyetiyle Karşılaştırılması - Araştırma Makalesi

Comparison of BREEAM Certified Construction Cost of a Training Building Compared to Traditional Construction Cost - Research Article

Tahir AKGÜL^{1*}, İlknur BEŞKEN², Orhan KARABIYIKOĞLU³

¹Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Sakarya / Türkiye

^{2,3}Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, L.E. Enstitüsü, İnşaat Mühendisliği ABD, Sakarya / Türkiye

Tahir AKGÜL ORCID No: 0000-0003-4826-9212

İlknur BEŞKEN ORCID No: 0000-0002-0500-9018

Orhan KARABIYIKOĞLU ORCID No: 0000-0001-5550-4677

*Sorumlu yazar: tahirakgul@subu.edu.tr

(Alınış: 21.03.2020, Kabul: 27.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Ana Ürün Koşullarında Çift Sıralı Ekim Yöntemlerine Göre Oluşturulan Farklı Bitki Sıklığının, Değişik Büyüme Özelliğine Sahip Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) Çeşitlerinin Bazı Önemli Tarımsal ve Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri - Araştırma Makalesi

The Effect of Plant Density on Pod Yield and Some Agronomic Characteristics of Different Growth Type Peanut Varieties (*Arachis hypogaea* L.) Grown as a Twin Row Planting Pattern in Main Crop Growing Condition - Research Article

Halil BAKAL^{1*}

¹ Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana, Türkiye

Ad SOYAD ORCID No: 0000-0002-9645-9291

*Sorumlu yazar: hbakal@cu.edu.tr

(Alınış: 18.03.2020, Kabul: 27.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

***Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala) ile Enfekte *Capoeta trutta* (Heckel,1843)'daki Değişikliklerin Biyokimyasal ve Histopatolojik Olarak İncelenmesi - Araştırma Makalesi**

Biochemical and Histopathological Examination of Changes in Infected *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) with *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala) - Research Article

Abdurrahman GÜL¹, Hayati YÜKSEL², Cebrahil TÜRK³, Cüneyt ÇAĞLAYAN^{4*}

¹ Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

³ Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu, Su Ürünleri Programı, Bingöl, Türkiye

⁴ Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

Abdurrahman GÜL ORCID No: 0000-0003-4055-0229

Hayati YÜKSEL ORCID No: 0000-0002-1724-1770

Cebrahil TÜRK ORCID No: 0000-0001-7061-4858

Cüneyt ÇAĞLAYAN ORCID No: 0000-0001-5608-554X

*Sorumlu yazar: ccaglayan@bingol.edu.tr

(Alınış: 18.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

42

49

55

63

Farklı Hıyar Genotiplerinin Işınlanmış Polenle Tozlaşma ile Partenogenetik Embriyo Oluşturma Frekansları ve Haploid Embriyo Gelişimi - Araştırma Makalesi

Parthenogenetic Embryogenesis Frequencies of Different Cucumber Genotypes by Irradiated Pollen Pollination and Haploid Embryo Development - Research Article

Çağlar YILDIZ^{1*}, Mücahit KORUK¹, Ahmet Can DOĞAN¹, Ş.Şebnem ELLİALTIOĞLU²

¹ Fidesan Tarım San. Tic. Ltd. Şti., Antalya, Türkiye

² Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

Çağlar YILDIZ ORCID No: 0000-0002-2499-5925

Mücahit KORUK ORCID No: 0000-0002-9404-5132

Ahmet Can DOĞAN ORCID No: 0000-0002-9575-7107

Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU ORCID No: 0000-0002-3851-466X

*Sorumlu yazar: caglarydz@gmail.com

(Alınış: 26.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

69

Phillyrea latifolia L. :Biological properties screening of different extracts - Research Article

Phillyrea latifolia L: Farklı Ekstraktlarının Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi - Araştırma Makalesi

Sengul UYSAL^{1,2*}

¹ Erciyes University Halil Bayraktar Health Services Vocational College, Kayseri, Turkey

² Ziya Eren Drug Application and Research Center, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Sengul UYSAL ORCID No: 0000-0003-4562-1719

*Sorumlu yazar: senguluysal@erciyes.edu.tr

(Alınış: 11.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

74

The Impact of Artificial Lightweight Aggregate on the Engineering Features of Geopolymer Mortar - Research Article

Yapay Hafif Agreganın Geopolimer Harcın Mühendislik Özellikleri Üzerindeki Etkisi - Araştırma Makalesi

Kasım MERMERDAŞ^{1*}, Süleyman İPEK², Nadhim Hamah SOR^{1,3},
Esameddin Saed MULAPEER¹, Şevin EKMEK¹

¹ Harran University, Engineering Faculty, Civil Engineering Department, Şanlıurfa, Turkey

² Bingöl University, Engineering-Architecture Faculty, Architecture Department, Bingöl, Turkey

³ Harran University, Engineering Faculty, Civil Engineering Department, Şanlıurfa, Turkey

Kasım MERMERDAŞ ORCID No: 0000-0002-1274-6016

Süleyman İPEK ORCID No: 0000-0001-8891-949X

Nadhim Hamah SOR ORCID No: 0000-0001-7349-5540

Esameddin Saed MULAPEER ORCID No: 0000-0001-8396-3440

Şevin EKMEK ORCID No: 0000-0002-2577-696X

*Sorumlu yazar: kasim.mermerdas@harran.edu.tr

(Alınış: 12.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

79

Farklı Akım Koşullarına Sahip Açık Kanal Akımının Sayısal Modellemesi - Araştırma Makalesi

Numerical Modelling of Open Channel Flow with Different Flow Conditions - Research Article

Oğuz ŞİMŞEK^{1*}

¹ Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye

Oğuz ŞİMŞEK ORCID No: 0000-0001-6324-0229

*Sorumlu yazar: oguzsimsek@harran.edu.tr

(Alınış: 22.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

91

GNP katkılı Hibrit PVB-TEOS Nanofiberlerin Üretimi ve Karakterizasyonu - Araştırma Makalesi

Fabrication and Characterization of GNP doped Hybrid PVB-TEOS Nanofibers - Research Article

Adem YAR^{1*}

¹ Bingöl Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, Bingöl, Türkiye
Adem YAR ORCID No: 0000-0002-1432-9590

101

*Sorumlu yazar: ademyar@bingol.edu.tr

(Alınış: 25.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Boyut İndirgeme Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Analizi - Araştırma Makalesi

Comparative Analysis of Dimension Reduction Methods - Research Article

Mücahit ÇALIŞAN^{1*}, Muhammed Fatih TALU²

¹Bingöl Üniversitesi, Enformatik Bölümü, Bingöl, Türkiye

²İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye

Mücahit ÇALIŞAN ORCID No: 0000-0003-2651-5937

Muhammed Fatih TALU ORCID No: 0000-0003-1166-8404

107

*Sorumlu yazar: mcalisan@bingol.edu.tr

(Alınış: 21.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Burdur Koşullarında İkinci Ürün Körpe Mısır Yetiştirme Olanakları - Araştırma Makalesi

Cultivation Possibility of Baby Corn in the Second Crop in Conditions of Burdur - Research Article

Ülkü YILDIRKAN¹, Burhan KARA^{2*}

¹ Ziraat Mühendisi, Burdur, Türkiye

² Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta, Türkiye

Ülkü YILDIRKAN ORCID No: 0000-0001-6881-6813

Burhan KARA ORCID No: 0000-0002-4207-0539

114

*Sorumlu yazar: burhankara@isparta.edu.tr

(Alınış: 07.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Yemlik Bezelye ve Yemlik Bakla Bitki Kısımlarının Kalite Özellikleri ve Mineral Madde İçeriklerinin Belirlenmesi - Araştırma Makalesi

Determination of Quality Properties and Mineral Matter Content of Plant Parts of Forage Pea and Forage Broad Bean - Research Article

Ömer Suha USLU¹, Fatma AKBAY², Adem EROL³

^{1 2 3}Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

Ömer Suha USLU ORCID No: 0000-0003-0858-0305

Fatma AKBAY ORCID No: 0000-0002-0156-9974

Adem EROL ORCID No: 0000-0002-3381-8402

118

*Sorumlu yazar: ftm.akbay01@gmail.com

(Alınış: 11.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Tokat ve Yozgat Bölgelerinden Toplanan Bazı Yenilebilir Mantarların Antimikrobiyal Potansiyeli Üzerine Bir Araştırma - Araştırma Makalesi

A Study on Antimicrobial Potential of Some Wild Edible Mushrooms Collected from Tokat and Yozgat Regions - Research Article

Hakan IŞIK¹, İsa KARAMAN², İbrahim TÜRKEKUL^{3*}

¹ Tokat M. Emin Saraç Anadolu İmam Hatip Lisesi, 60030, Tokat, Türkiye

² Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 60240, Tokat, Türkiye

³ Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 60240, Tokat, Türkiye

Hakan IŞIK ORCID No: 0000-0001-8241-0078

İsa KARAMAN ORCID No: 0000-0001-5663-8941

İbrahim TÜRKEKUL ORCID No: 0000-0002-1036-9835

*Sorumlu yazar: ibrahim.turkekul@gop.edu.tr

(Alınış: 24.03.2020, Kabul: 04.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

125

İstanbul'daki Tahıl Unlarında Aflatoksin, Deoksinivalenol ve Zearalanon Düzeyleri - Araştırma Makalesi

Aflatoxin, Deoxynivalenol and Zearalenone Levels in Grain Flour Samples in İstanbul - Research Article

Kadriye TÜRKEŞSİZ^{*1}, Kâmil BOSTAN²

¹ Haliç Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu Aşçılık Programı, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Aydın Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul, Türkiye

Kadriye TÜRKEŞSİZ ORCID No: 0000-0003-3028-2291

Kâmil BOSTAN ORCID No: [0000-0001-7583-0066](https://orcid.org/0000-0001-7583-0066)

*Sorumlu yazar: kadriyeturkessiz@halic.edu.tr

(Alınış: 21.04.2020, Kabul: 05.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

131

Difference Series Spaces and Matrix Transformations - Research Article

Fark Seri Uzayları ve Matris Dönüşümleri - Araştırma Makalesi

G. Canan HAZAR GÜLEÇ^{1*}

¹ Department of Mathematics, Pamukkale University, Denizli, Turkey

G. Canan HAZAR GÜLEÇ ORCID No: 0000-0002-8825-5555

*Sorumlu yazar: gchazar@pau.edu.tr

(Alınış: 24.04.2020, Kabul: 08.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

137

Ekolojik Risk Değerlendirmede Ekotoksikogenomik Kavramı ve Verdiği Katkılar – Derleme

Ecotoxicogenomics Concept and Its Contributions to Ecological Risk Assessment – Review

Mehmet Kürşat ŞAHİN^{1*}

144

¹ Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye
ORCID No: 0000-0003-0834-5081

*Sorumlu yazar: yasambilimci.kursat@gmail.com

(Alınış: 01.04.2020, Kabul: 04.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Aydın'ın Değerlerinden Biri Olan Kestane Meyvesinin Önemi - Derleme

The Importance of the Chestnut Fruit Which is One of the Values of Aydın - Review

Nergiz YÜKSEL^{*1,2}, Eda ÜLKERYILDIZ BALÇIK¹, Derya DENİZ ŞİRİNYILDIZ¹, Ziya BİNAT^{1,3}, Olcay BOYACIOĞLU^{1,4}

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 09100 Aydın, Türkiye

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Germencik Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, 09700 Germencik, Aydın, Türkiye

³T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İncirliova, Aydın, Türkiye

⁴Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 09100 Aydın, Türkiye

162

Nergiz YÜKSEL ORCID No: 0000-0002-1334-051X

Eda ÜLKERYILDIZ BALÇIK ORCID No: 0000-0003-1424-1043

Derya DENİZ ŞİRİNYILDIZ ORCID No: 0000-0002-6491-5512

Ziya BİNAT ORCID No: 0000-0003-0145-8497

Olcay BOYACIOĞLU ORCID No: 0000-0003-0436-3020

*Sorumlu yazar: nergiz.yuksel@adu.edu.tr

(Alınış: 02.04.2020, Kabul: 07.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Yatalak İnek Sendromuna Güncel Bir Bakış - Derleme

A Current Overview of Downer Cow Syndrome - Review

Ramazan KAMAN¹, Akın KIRBAŞ^{2*}

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

²Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Yozgat, Türkiye

Ramazan KAMAN ORCID No: 0000-0001-6304-6063

Akın KIRBAŞ ORCID No: 0000-0001-9159-3240

*Sorumlu yazar: akin.kirbas@bozok.edu.tr

(Alınış: 26.04.2020, Kabul: 04.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

167



Biological Evaluation of Curcumin As a Natural RANKL Inhibitor in Osteosarcoma

Aykut ÖZGÜR^{1*}

¹ Tokat Gaziosmanpaşa University, Artova Vocational School, Department of Veterinary Medicine, Laboratory and Veterinary Health Program, Tokat, Turkey
 Aykut ÖZGÜR ORCID No: 0000-0002-4457-1249

*Sorumlu yazar: aykut.ozgur@gop.edu.tr

(Alınış: 22.04.2020, Kabul: 12.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Keywords

Osteosarcoma,
 Curcumin,
 RANKL,
 Saos-2

Abstract: Osteosarcoma is an important health problem among children and teenagers. Metastases is observed in about twenty percent of osteosarcoma patients. RANK/RANKL/OPG signaling pathway is involved in formation of osteosarcoma and its metastases. Especially, the overexpression of RANKL is related to osteoclast and osteosarcoma formation. Therefore, inhibition of RANKL activity has been significant treatment method of osteosarcoma. In this study, curcumin was evaluated as RANKL inhibitor in osteosarcoma cells. In this context, anti-proliferative and anti-invasive properties of the curcumin were determined with *in-vitro* and computational assays in Saos-2 cell line. Obtained results showed that curcumin may have a potential for treatment of osteosarcoma and its metastases.

Kurkumin'in Osteosarkomada Doğal RANKL İnhibitörü Olarak Biyolojik Değerlendirilmesi

1

Anahtar Kelimeler

Osteosarkoma,
 Kurkumin,
 RANKL,
 Saos-2

Öz: Osteosarkoma çocuklar ve ergenlik çağındaki kişilerde önemli bir sağlık sorunudur. Metastaz osteosarkoma hastalarının yaklaşık yüzde yirmisinde gözlenmektedir. RANK/RANKL/OPG sinyal yolağı osteosarkoma ve metastazında görev almaktadır. Özellikle RANKL'nin aşırı ekspresyonu osteoklast ve osteosarkoma oluşumu ile ilişkilidir. Bundan dolayı RANKL'nin aktivitesinin inhibisyonu osteosarkoma tedavisinde önemli bir metottur. Bu çalışmada kurkumin osteosarkoma hücrelerinde RANKL inhibitörü olarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda kurkumin'in anti-proliferatif ve anti-invaziv özellikleri Saos-2 hücre hattında *in-vitro* ve hesapsal teknikler ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar kurkumin'in osteosarkoma ve metastazında potansiyeli olabileceğini göstermiştir.

1. INTRODUCTION

Osteosarcoma is the most common type of cancer that originates in the bone and it is diagnosed cancer types of 3% of children. Osteosarcoma is the most common malignancy in bone and 3% of diagnosed cancer types are osteosarcoma in children. Age, gender, radiation, bone infarct and genetic susceptibility may increase more likely for developing osteosarcoma. Osteosarcoma usually develops in osteoblasts and it can metastasize to parts of the skeleton and other tissues especially lung in later stage of disease. The 5-year survival rate of people with osteosarcoma is about 70%, although this rate is average 20% of patients with metastasis. Chemotherapy is common treatment method in osteosarcoma before and after surgery. Unfortunately, current therapy methods are no effective and target specific drugs are not available to treat osteosarcoma yet [1-3]. Therefore, the

understanding of molecular mechanisms of the osteosarcoma is essential for designing target specific therapeutic agents.

RANK/RANKL/OPG signaling pathway plays significant roles in bone biology and osteosarcoma (Figure-1). RANKL (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand) is produced by osteoblasts and binds to RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B) selectively. RANKL is responsible for osteoclastogenesis and stimulates osteoclast formation and bone resorption. Furthermore, RANK is involved in differentiation and activation of osteoclasts. Apart from RANK and RANKL, OPG (osteoprotegerin) is produced by osteoblast cells and inhibits RANK-RANKL interaction. Thus, OPG prevents osteoclast formation and bone resorption. The balance of RANKL/OPG ratio is important parameter in bone homeostasis. RANKL is overexpressed in osteosarcoma cells and the increase of

RANKL/OPG ratio is the most important biological marker in osteosarcoma. Therefore, designing target specific compounds for inhibition of RANKL activity is significant approach to treatment of osteosarcoma [4-7].

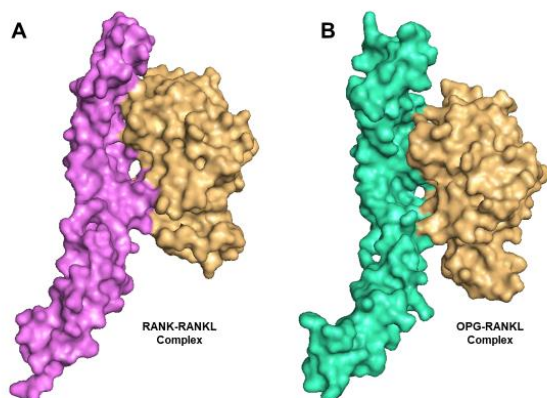


Figure 1. Structure of RANK-RANKL (A) and OPG-RANKL (B) (RANK: Magenta, OPG: Green, RANKL: Orange)

Curcumin is well-known herbal supplement which is produced from *Curcuma longa* plants (Figure-2). Curcumin exhibit good tolerability and bioavailability properties; therefore, curcumin has been characterized as “Generally Recognized as Safe” (GRAS) by US Food and Drug Administration (FDA). Generally, supplementation of curcumin inhibits inflammation markers and induces presences of endogenous antioxidants in the body. Up to now, a wide variety of biological activities of the curcumin including anticancer, antioxidant, and antiviral, have been determined in pre-clinical and clinical studies. Numerous studies indicated that curcumin inhibits cell proliferation and blocks a variety of cellular signaling pathways in cancer cells [8-11].

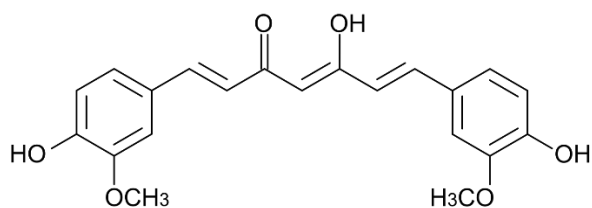


Figure 2. Structure of curcumin

In this study, anticancer activity of curcumin was determined on human osteosarcoma cell line (Saos-2) along with molecular docking and proteomic experiments. Our results report curcumin may be potent drug candidate as RANKL inhibitor in treatment of osteosarcoma.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Saos-2 cell line was from ATCC (American Type Culture Collection, USA). Modified McCoy's 5A medium, heat-inactivated fetal bovine serum, L-glutamine, trypsin-EDTA, gentamycin and XTT ((2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-

5-carboxanilide) cell proliferation kit were supplied from Biological Industries Ltd. Human RANK, RANKL and OPG ELISA kits were from YL Biont Ltd. Curcumin was purchased from Sigma Aldrich.

2.2. Cell Culture

To perform *in-vitro* experiments, human osteosarcoma Saos-2 cells were cultured in modified McCoy's 5A medium supplemented with 10% fetal bovine serum and 0.1% gentamycin. Cells were cultivated in 5% CO₂ at a temperature of 37°C.

2.3. Cell Proliferation Assay

Saos-2 cells were seeded in 96-well plates at 10×10^4 cells per well and incubated overnight. On the following days, the osteosarcoma cells were exposed to curcumin between 200-0.012 μ M concentrations with two-fold dilution for 48 hours. To measure cell viability, XTT cell proliferation kit was applied according to instructions from the supplier. The IC₅₀ value of curcumin on Saos-2 cells was calculated with GraphPad Prism 6.0 software [12,13].

2.4. Cell Migration Assay

Wound healing assay was performed to investigate anti-invasive activity of curcumin on Saos-2 cells. Osteosarcoma cells were seeded in 6-well plate and cells were incubated until they covered approximately 90% of the plate surface. Then, cell monolayers were scratched by yellow pipette tip and cells were washed with PBS. Curcumin was incubated with scratched cells for 48h and cell images were photographed at 0h, 24h and 48h with Olympus CKX53 inverted microscope to measure the closure ratio of the wound area. The migration levels of the cells in effect of the curcumin were calculated according to control.

2.4. Molecular Docking

To determine molecular mechanism of interaction between curcumin and RANK-RANKL, docking calculations were performed with Docking Server (<http://www.dockingserver.com/web>) [13,14]. The 3D structural coordinates of RANK-RANKL complex (PDB code: 3ME2) was retrieved from Protein Data Bank (www.rcsb.org), and the 2D structure of curcumin was obtained from PubChem. Before docking calculation, heteroatoms of the protein complex were removed and grid box of the complex was determined as 45, 47, and 60 Å for x, y and z respectively. PyMol visualization software was used to analyze docking results.

2.5. RANK, RANKL and OPG Protein Level Assay

The differences RANK, RANKL and OPG expression levels with the effect of curcumin on Saos-2 cells were measured by commercial ELISA kits according to the manufacturers' instructions. Curcumin was incubated with Saos-2 cells at 48h and cells were washed with PBS twice. Then, cells were lysed using cold-ice buffer

solution (50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0.2 mM PMSF, pH:7.4) and obtained cell lysates were stored at -80 °C to perform ELISA assays. The total protein concentrations of the cell lysates were determined by Bradford method [15].

2.6. Statistical Analysis

Differences in the mean values of measured activities were evaluated statistically using the SPSS 17.0 program with one-way analysis of variance (ANOVA). The results were represented as a mean \pm standard error of the mean (SEM). Probability values of $p < 0.05$ were considered to be significant.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Cell Proliferation Assay

To determine the anti-proliferative activity of curcumin on osteosarcoma cells, Saos-2 cells were treated with curcumin by using a variety of concentrations for 48h. Before XTT experiment, curcumin was dissolved in DMSO and diluted with medium to contain 0.1% DMSO. According to the XTT assay results, IC_{50} value of curcumin was calculated as 12.7 μ M on Saos-2 cells and osteosarcoma cells exposed to curcumin displayed a significant reduce in cell proliferation in a dose-dependent manner compared with control. Curcumin contains both methoxy (-OCH₃) and hydroxyl (-OH) groups in aromatic rings. It was important to note that methoxy groups generate an excess of reactive oxygen species (ROS) and stimulate apoptotic and autophagic pathways in cancer cells. Also, methoxy groups may enhance lipophilicity of the compound, and this makes it easier to uptake the compound into the cell [14]. The presence of hydroxyl group increase water solubility of compounds and influence the electron density of the phenyl ring [16]. These factors may positively contribute to the interaction of curcumin and RANK-RANKL complex.

3.2. Cell Migration Assay

To investigate anti-invasive properties of the curcumin in osteosarcoma, Saos-2 cells were incubated with curcumin for 48h. The wound area of control and curcumin treated Saos-2 cells were calculated as approximately 60% and %90 ($p < 0.05$) respectively after 24h. At the end of the 48h, the wound areas were determined about 25% and %75 ($p < 0.05$) in control and curcumin treated osteosarcoma cells respectively (Figure-3). Obtained results demonstrated that curcumin exhibited anti-invasive activity at 24h and 48h against osteosarcoma cells. Metastases are diagnosed in one out of every five patients with osteosarcoma and survival rate of patients was decreased dramatically in metastatic cases. Therefore, the development of dual-effect drugs is significant pharmaceutical approach to inhibit proliferation and invasion processes of osteosarcoma. In this study, curcumin blocked both cell proliferation and invasion process of osteosarcoma. Thus, curcumin may

be potent drug template to inhibit cell proliferation and metastasis in osteosarcoma.

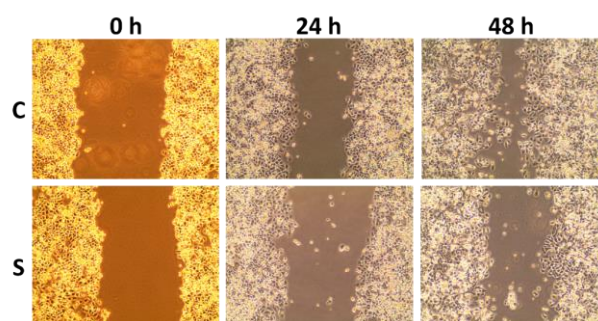


Figure 3. Migration assay results of curcumin and control in Saos-2 cells (C: Control, S: Curcumin)

3.3. Molecular Docking

Molecular docking calculations were performed for better understanding of the interaction between curcumin and RANK-RANKL protein complex. Table-1 shows the docking analysis results and Figure-4 presents the interaction between RANK-RANKL complex and curcumin.

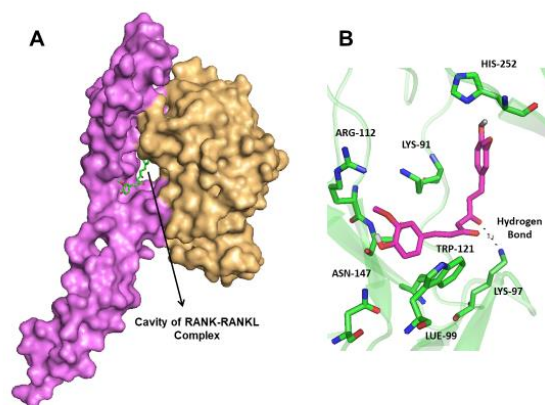


Figure 4. A) Interaction of curcumin (shown in green) with RANK-RANKL complex (RANK: magenta, RANKL: orange). B) Specific interactions of curcumin (shown in magenta) with RANK-RANKL (Residues and curcumin are shown in green and magenta sticks model, respectively)

Table 1. Docking calculation results of curcumin with RANK-RANKL protein complex

Est. Free Energy of Binding (kcal/mol)	Est. Inhibition Constant (Ki)	vdW+Hbond desolv Energy (kcal/mol)	Electrostatic Energy (kcal/mol)	Total Inter molec. Energy (kcal/mol)
-6.94	44.02 μ M	-7.42	-0.44	-7.47

According to the docking results, curcumin selectively bond to interface region of RANK-RANKL complex (Figure-4) with -6.94 kcal/mol estimated free energy of binding and 44.02 μ M estimated inhibition constant (Table-1). Curcumin was localized to the ligand binding cavity of the RANK-RANKL complex and interacted with Lys97, Asn147, Trp121, Cyc113, Leu99, Lys91, His252 and Arg112. These residues are found in ligand binding cavity of the RANK-RANKL complex. Especially, curcumin generated hydrogen bond with Lys97 (3.3 Å) and pi-pi interaction with Trp121. These

interactions may cause conformational changes in RANK-RANKL protein complex and thus, tumorigenesis of osteosarcoma is inhibited with the result of decreased RANKL activity in Saos-2 cells.

3.4. RANK, RANKL and OPG Protein Level Assay

RANK/RANKL/OPG is a key signaling pathway in osteosarcoma. Particularly, increasing RANKL and decreasing OPG protein expression levels are the most important clinical markers in patients with osteosarcoma. Aberrant expression of RANKL stimulates osteoclast formation, although up-regulation of OPG inhibits RANK-RANKL interaction and osteolysis. Therefore, down-regulation of RANKL/OPG is a significant success criterion for target specific drugs in treatment osteosarcoma [5,7].

Table 2. Protein levels of RANK, RANKL and OPG in curcumin-treated and non-treated Saos-2 cells (Data are presented as mean \pm SEM, * p <0.05 compared to control)

	RANK (ng/ml)	RANKL (ng/ml)	OPG (ng/ml)
Control	0.87 \pm 0.05	4.72 \pm 0.14	0.51 \pm 0.04
Curcumin	0.85 \pm 0.03	1.97 \pm 0.09*	0.84 \pm 0.09*

In this study, down-regulation of RANKL and up-regulation of OPG are determined with curcumin-treated osteosarcoma cells in compared to control group (Table-2, p <0.05). Furthermore, RANKL/OPG ratio decreased from 9.25 to 2.34 in osteosarcoma cells with curcumin. Protein expression level of the RANK has not changed significantly in curcumin-treated Saos-2 cells compared to control (p >0.05). Actually, the differences of RANK expression level are not proven biological marker in tumorigenesis of osteosarcoma (Table-2).

4. CONCLUSION

Osteosarcoma is important type of the bone cancer and survival rate of patients with osteosarcoma is low since there are no target specific drugs. RANK/RANKL/OPG may be target signaling pathway to develop efficient therapeutics against osteosarcoma. RANKL is overexpressed in osteosarcoma cells and down-regulation of RANKL blocks osteoclast formation and tumorigenesis of the osteosarcoma. Curcumin is a small-molecular weight natural compound which exhibits anti-tumoral activity in wide variety of cancer types. Curcumin interacts with RANK-RANKL interference and decreases RANKL/OPG ratio, and thus, it inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells. Based on the results from this study, curcumin may promise drug candidate to treat osteosarcoma and its metastases. Also, the development of curcumin analogs may have great potential in treatment of osteosarcoma in future.

Acknowledgement

This work was supported by Research Fund of the Tokat Gaziosmanpaşa University. Project number: 2019/86.

REFERENCES

- [1] Lamoureux F, Trichet V, Chipoy C, Blanchard F, Gouin F, Redini F. Recent advances in the management of osteosarcoma and forthcoming therapeutic strategies. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2007; 7(2): 169-81.
- [2] Kim HJ, Chalmers PN, Morris CD. Pediatric osteogenic sarcoma. *Curr Opin Pediatr.* 2010; 22(1): 61-6.
- [3] Ottaviani G, Jaffe N. The epidemiology of osteosarcoma. *Cancer Treat Res.* 2009; 152: 3-13.
- [4] Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 473(2): 139-46.
- [5] Baud'huin M, Duplomb L, Ruiz Velasco C, Fortun Y, Heymann D, Padrines M. Key roles of the OPG-RANK-RANKL system in bone oncology. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2007; 7(2): 221-32.
- [6] Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen.* 2020; 40:2.
- [7] Ando K, Mori K, Redini F, Heymann D. RANKL/RANK/OPG: key therapeutic target in bone oncology. *Curr Drug Discov Technol.* 2008; 5(3): 263-8.
- [8] Salehi B, Stojanović-Radić Z, Matejić J, Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Martins N, et al. The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials. *Eur J Med Chem.* 2019; 163: 527-45.
- [9] Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; 41(1): 40-59.
- [10] Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol.* 2008; 75(4): 787-809.
- [11] Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.* 2003; 23(1A): 363-98.
- [12] Gümüş M, Ozgur A, Tutar L, Disli A, Koca İ, Tutar Y. Design, Synthesis, and Evaluation of Heat Shock Protein 90 Inhibitors in Human Breast Cancer and Its Metastasis. *Curr Pharm Biotechnol.* 2016; 17(14): 1231-45.
- [13] Koca İ, Gümüş M, Özgür A, Dişli A, Tutar Y. A Novel Approach to Inhibit Heat Shock Response as Anticancer Strategy by Coumarine Compounds Containing Thiazole Skeleton. *Anticancer Agents Med Chem.* 2015; 15(7): 916-30.
- [14] Koca İ, Özgür A, Er M, Gümüş M, Açıklım Coşkun K, Tutar Y. Design and synthesis of pyrimidinyl acyl thioureas as novel Hsp90 inhibitors in invasive ductal breast cancer and its bone metastasis. *Eur J Med Chem.* 2016; 122: 280-90.
- [15] Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. *Methods Mol Biol.* 1994; 32: 9-15.
- [16] Cramer J, Sager CP, Ernst B. Hydroxyl groups in synthetic and natural-product-derived therapeutics:

A perspective on a common functional group. J
Med Chem. 2019; 62: 8915-8930.



Toz Enjeksiyon Kalıplama Yöntemi ile Üretilen FeCo Alaşımlarının Mikroyapı ve Mekanik Özelliklerinin Araştırılması

Özgür ÖZGÜN^{1,2}, Hamit Özkan GÜLSOY^{3*}

¹ Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

³ Marmara Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, 34722 İstanbul, Türkiye

Özgür ÖZGÜN ORCID No: 0000-0003-3816-6746

Hamit Özkan GÜLSOY ORCID No: 0000-0001-5366-5741

*Sorumlu yazar: ogulsoy@marmara.edu.tr

(Alınış: 18.03.2020, Kabul: 14.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

FeCo alaşımı,
Toz enjeksiyon kalıplama,
Mikroyapı,
Mekanik özellikler

Öz: Bu çalışmada, Fe₅₀Co_{0,2}Si alaşımından toz enjeksiyon kalıplama tekniği ile metalik parça üretimi gerçekleştirilmiştir. Şekillendirme, çok bileşenli bir bağlayıcı sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekillendirilen numuneler, uygulanan iki aşamalı bağlayıcı giderme işleminden sonra optimum sinterleme sıcaklığının belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklıklarda sinterlenmiştir. Üretilen parçaların yoğunluk, mikroyapı ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Yoğunluk ölçümleri ve mikroyapı incelemeleri, artan sinterleme sıcaklığının elde edilen bağıl yoğunluğu artırdığını göstermiştir. Ancak, mikroyapı incelemelerinden bunun tane irileşmesine neden olduğu görülmüştür. Mikroyapının iki farklı fazdan oluştuğu tespit edilmiştir. Bu fazlardan biri FeCo katı çözümlenmesi iken diğer faz, üzerinde (Fe,Co)₃C lamelleri bulunan FeCo katı çözümlenmesidir. Sertlik değerleri literatürde belirtilmiş olan değerlere yakın çıkmış olup, çekme testlerinde numuneler oldukça gevrek bir davranış sergilemiştir.

6

Investigation of Microstructure and Mechanical Properties of FeCo Alloys Produced through Powder Injection Molding Method

Keywords

FeCo alloy,
Powder injection molding,
Microstructure,
Mechanical properties

Abstract: In this study, metallic parts were produced through powder injection molding technique from the Fe₅₀Co_{0.2}Si alloy. The shaping was carried out using a multi-component binder system. The shaped samples were sintered at different temperatures in order to determine the optimum sintering temperature after the two-step debinding process applied. The density, microstructure, and mechanical properties of the produced parts were examined. Density measurements and microstructure examinations have shown that increasing sintering temperature increases the relative density obtained. However, it has been observed from microstructure examinations that this causes grain coarsening. Microstructure of the parts produced consists of two different phases. While one of these phases is the FeCo solid solution, the other phase is the FeCo solid solution with lamellar (Fe, Co)₃C. The hardness values were close to the values specified in the literature, and the samples exhibited a rather brittle behavior in tensile tests.

1. GİRİŞ

Küçük bir dış alan uygulandığında kolaylıkla manyetik hale gelen veya manyetiklikleri giderilebilen soft manyetik malzemeler mühendislik malzemelerinin önemli bir sınıfını oluşturmaktadır [1]. Bu malzemeler metalik alaşımlar, intermetalikler ve seramikler olmak üzere genel olarak üç kategoriye ayrılabilir [1,2]. Ticari manyetik malzemeler arasında en yüksek manyetik doygunluğa sahip olanları FeCo intermetalik

bileşiği esaslı alaşımlardır [1]. Hacim merkezli kübik FeCo alaşımı, sahip olduğu yüksek manyetik doygunluk, düşük koersivite ve yüksek küri sıcaklığı nedeniyle manyetik kayıt cihazları, manyetik sensörler ve yüksek güçlü motorlar veya jeneratörlerde yaygın olarak kullanılan en önemli soft manyetik malzemelerden biridir [3-6]. Ancak, FeCo alaşımları çok gevrek olduğu için üretilmeleri oldukça zordur [7,8]. Sıcak deformasyon ile şekillendirilebilmeleri için 900 °C'nin üzerinde işlem yapılması gerekmektedir [9]. Soğuk şekillendirme esnasında deformasyon sertleşmesi

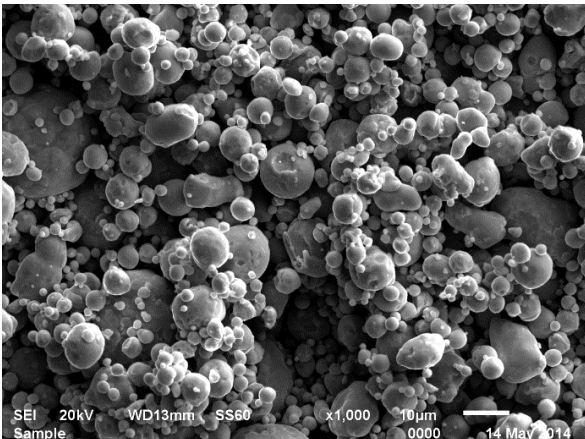
nedeniyle sertliklerinde meydana gelen hızlı artış ve buna bağlı olarak meydana gelen çatlamalardan dolayı soğuk haddeme ile şekillendirilmeleri oldukça güçtür [10]. Bunlara ek olarak küçük boyutlu ve karmaşık şekilli FeCo parçaların üretiminde döküm yöntemi uygun değildir [6].

Karmaşık şekilli parçaları yüksek ölçü hassasiyetinde üretmeyi sağlayan toz enjeksiyon kalıplama (TEK) yöntemi bir toz metalurjisi (T/M) tekniğidir. Bir T/M tekniği olmasına rağmen TEK, T/M'ndeki geleneksel presleme ve sinterleme aşamaları ile üretilen parçalara nazaran daha yüksek yoğunluğa ve mekanik özelliklere sahip parçaların üretilmesini mümkün kılar. Döküm ve talaşlı imalat yöntemleri ile kıyaslandığında TEK, daha karmaşık şekilli parçaların istenilen son geometri ve ölçülere sahip olacak şekilde daha ekonomik üretimine olanak tanır. Bunun yanında üretilen parçalar homojen kimyasal bileşim, ince tane yapısı, yüksek yüzey kalitesi gibi üstün özellikler sergilerler [11]. Son zamanlarda TEK metodu ile çeşitli alaşımlardan parça üretimine yönelik çok sayıda çalışma yapılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir [12-15].

Bu çalışmada, diğer üretim yöntemleri ile üretiminde çeşitli sınırlamalar bulunan FeCo alaşımından TEK metodu ile parça üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimde optimum sinterleme sıcaklığının tespit edilmesi amacıyla farklı sinterleme sıcaklıkları test edilmiştir. Üretilen parçaların yoğunluk, mikroyapı ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Yoğunluk ölçümleri Arşimet prensibine göre gerçekleştirilmiştir. Mikroyapı, elektron mikroskopu (SEM) ve X-ışını analizi (XRD) teknikleri ile incelenmiştir. Sertlik ölçümleri ve çekme deneyleri uygulanarak üretilen malzemelerin mekanik özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar FeCo alaşımları için literatürde verilen özelliklerle kıyaslanmıştır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

Çalışmalarda Osprey firması tarafından gaz atomizasyonu ile üretilmiş önalaşım Fe₅₀Co_{0,2}Si tozu kullanılmıştır. Toza ait SEM görüntüsü Şekil 1'de verilmiş olup tozun küresel şekilli parçacıklardan oluştuğu görülmektedir. Tozun parçacık boyutu 4-32 µm aralığındadır (D₅₀: 11,1 µm).



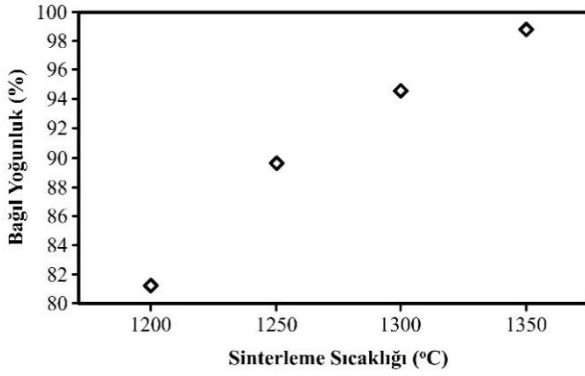
Şekil 1. Fe₅₀Co_{0,2}Si tozunun SEM görüntüsü

Fe₅₀Co_{0,2}Si tozunun polimerik malzemelerden oluşan çok bileşenli bir bağlayıcı sistemi (ağırlıkça %69 parafin mum, %20 polipropilen, %10 brezilya mumu ve %1 stearik asit) ile 170 °C'de karıştırılmasıyla hazırlanan besleme stoğu (hacimsel olarak %62,5 toz) enjeksiyonla kalıplanarak standart çekme çubuğu formuna sahip numuneler şekillendirilmiştir. Kalıplama işlemi, enjeksiyon cihazının hazne ve nozul kısımları 170 °C'ye ısıtılarak 12,5 MPa basınç ve 20 sn tutma süresi ile gerçekleştirilmiştir. Şekillendirilen numunelere solvent (60 °C'ye ısıtılmış heptan içerisinde 6 saat bekletme) ve ısı bağlayıcı giderme işlemleri uygulanmış, bağlayıcısı giderilen numuneler vakum ortamında 1200-1350 °C arasındaki farklı sıcaklıklarda 1 saat bekleme süresi ile sinterlenmiştir.

Sinterlenen numunelerin yoğunlukları Arşimet prensibine göre suya daldırma yöntemiyle belirlenmiştir. XRD analizi, Rigaku UltimaIV X-Ray Diffractometer cihazı ile Cu X-ışını tüpü (λ=1,5405) kullanılarak 0,02/0,4 saniye tarama hızı ile yapılmıştır. Mikroyapı incelemeleri için numuneler farklı zımparalama aşamalarından (220, 400, 600, 800, 1000 ve 1200 grit) geçirildikten sonra 1 µm'lik elmas süspansiyon ve çuha kullanılarak parlatılmıştır. Dağlama işlemi %5'lik nital çözeltisi ile yapılmıştır. SEM incelemeleri JEOL marka JSM6510 model mikroskop ile gerçekleştirilmiştir. Enerji dağılım spektrometresi (EDS) analizleri SEM cihazına bağlı IXRF 550 marka sistem ile yapılmıştır. Sertlik ölçümleri Vickers yöntemine göre Emco-Test marka ve M1C 010 model cihaz kullanılarak 100 g yükün 10 sn uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Çekme deneyleri Shimadzu AG-IC 50 kN model çekme cihazı kullanılarak oda sıcaklığında 0,5 mm/dk sabit çekme hızı ile yapılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Şekil 2'de farklı sıcaklıklarda yapılan sinterleme işlemleri sonucunda numunelerde ulaşılan bağıl yoğunluk değerleri verilmiştir. Sinterleme sıcaklığının artmasıyla ulaşılan bağıl yoğunluk değerleri de artmıştır. Çalışmada kullanılan tozun teorik yoğunluğu 8,35 g.cm⁻³ olarak hesaplanmıştır. En yüksek yoğunluk değeri 8,26 g.cm⁻³ olarak 1350 °C'de sinterlenen numunede elde edilmiştir. Bu yoğunluk değerine karşılık gelen bağıl yoğunluk değeri %98,82 olup T/M teknikleri ile üretilen malzemeler için oldukça yüksek bir değerdir. 1375 °C ve üzerinde yapılan sinterleme denemelerinde numunelerde ergimeler meydana gelmiş ve buna bağlı olarak şekil kayıpları oluşmuştur. Fe₅₀Co alaşımından TEK yöntemi ile parça üretiminin gerçekleştirildiği bir çalışmada, 980 °C'de sinterlenen numunelerde ortalama 8,03 g.cm⁻³, 1330 °C'de sinterlenen numunelerde ise ortalama 8,07 g.cm⁻³ yoğunluk değerleri elde edilmiştir [16]. Söz konusu çalışmaya [16] göre şimdiki çalışmada, 1300 °C'de 7,92 g.cm⁻³ gibi daha düşük bir yoğunluk değeri elde edilmişken 1350 °C'de gerçekleştirilen sinterleme ile daha yüksek bağıl yoğunluk elde edilmiştir. Buna rağmen iki çalışmada da elde edilen sonuçlar yakın olup, yoğunluk değerlerindeki küçük farklılıkların kullanılan tozların parçacık boyutları arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

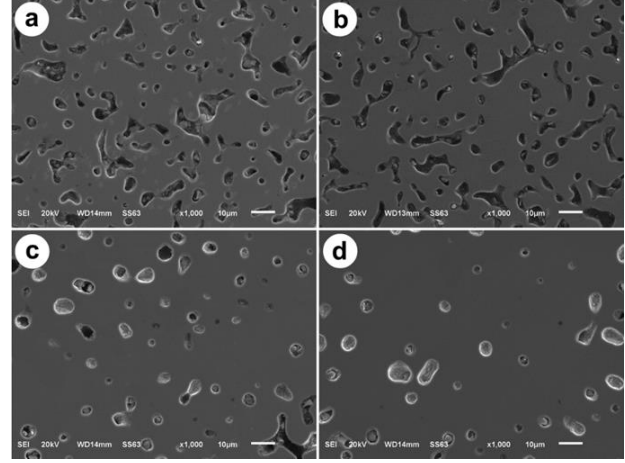


Şekil 2. Bağlı yoğunluk değerlerinin sinterleme sıcaklığı ile değişimi

Yoğunluk ölçümlerini desteklemek amacıyla parlatma işlemi uygulanmış numunelerden dağlama öncesi alınan SEM görüntüleri Şekil 3'te verilmiştir. 1200 °C'de sinterlenen numunenin görüntüsünde birbirleri ile bağlantılı, iri ve düzensiz şekilli gözenekler bulunduğu görülmektedir. Sinterleme sıcaklığındaki artışla birlikte, yoğunluk ölçümleri ile uyumlu olarak gözenek miktarı azalmıştır. Gözenek miktarındaki azalmanın yanında gözeneklerin boyutları da küçülmüştür. T/M ile üretilen malzemelerin mikroyapısında bulunan küresel geometriye sahip gözeneklerin mekanik özellikler üzerindeki olumsuz etkilerinin düzensiz geometriye sahip gözeneklere nazaran daha düşük olduğu bilinmektedir [17]. Bu açıdan bakıldığında 1300 °C ve altında gerçekleştirilmiş sinterlemeler sonucu oluşan gözenek geometrisinin mekanik özellikleri olumsuz etkileyeceği söylenebilir. 1350 °C'de uygulanan sinterleme işlemi sonucu gözeneklerin küresel şekilli olduğu ve mekanik özellikler üzerinde meydana getirecekleri olumsuz etkinin daha az olacağı söylenebilir. TEK tekniği ile üretilen parçaların uygun sinterleme koşulları sağlandığında yapılarındaki gözenekleri daha küçük boyutlu ve küresel şekilli olması yöntemin bir avantajı olarak ortaya çıkmaktadır [18].

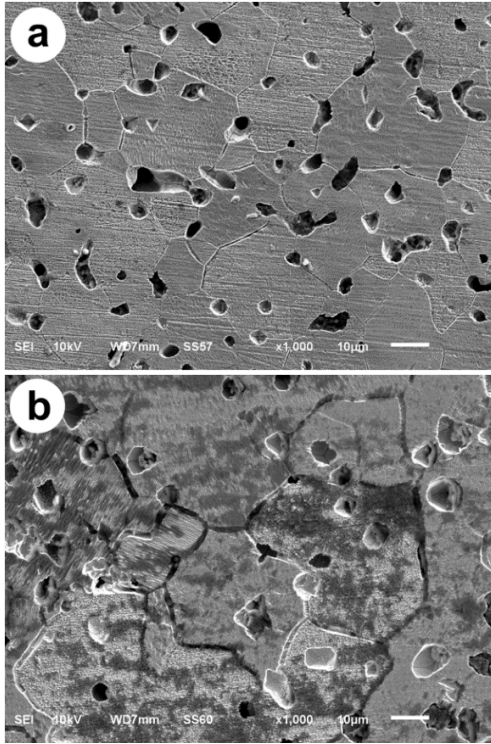
Şekil 4'te dağlama işleminden sonra alınmış SEM görüntüleri verilmiştir. 1250 °C'de sinterlenen numuneye ait SEM görüntüsünde yoğunluk incelemelerinde ulaşılan sonuçlarla uyumlu olarak bol miktarda iri boyutlu ve düzensiz şekilli gözenek bulunduğu görülmektedir. Çalışmada parçacık boyutu küçük tozlar kullanılmış olmasına rağmen 1250 °C'de sinterlenen numunenin yer yer 30-40 µm aralığında iri boyutlu taneler içerdiği görülmektedir. Bu, sinterleme işleminin tane irileşmesine neden olduğunu göstermektedir. 1350 °C'de sinterlenen numunenin SEM görüntüsünde çok daha iri boyutlu taneler mevcut olup, artan sinterleme sıcaklığı ile tane irileşmesi daha belirgin bir hal almıştır. Silva et al. [16] tarafından yapılan çalışmada da sinterleme sıcaklığındaki artışla birlikte tane boyutu önemli ölçüde artmıştır. İnce taneli mikroyapıya sahip malzemelerin iri taneli olanlara kıyasla daha üstün fiziksel ve mekanik özellikler sergileyeceği iyi bilinen bir katedir [13-15]. Özellikle FeCo alaşımlarında hem mekanik özellikler hem de manyetik özellikler açısından tane boyutu önemli etkilere sahiptir [16, 19]. FeCo alaşımlarının mukavemetini artırmak amacıyla uygulanan tane inceltme, katı çözültü oluşturma ve çökeltme sertleşmesi gibi işlemlerin manyetik özelliklerde azalmaya neden olduğu vurgulanmıştır [19]. Ticari alaşımlarda, düşük oranda karbon ile niyobyum ve tantal gibi karbür oluşturu elementlerin eklenmesi sayesinde ince karbür çökeltileri oluşur. Bu ince karbürlerin varlığı, son tavlama işlemi sırasında tane büyümesini kısıtlar ve ince tane boyutunu koruyarak mukavemeti artırır. Ancak, bu yöntemlerle daha yüksek mukavemet elde edilse de koersivitede de artış meydana gelmektedir [19].

Ticari alaşımlarda, düşük oranda karbon ile niyobyum ve tantal gibi karbür oluşturu elementlerin eklenmesi sayesinde ince karbür çökeltileri oluşur. Bu ince karbürlerin varlığı, son tavlama işlemi sırasında tane büyümesini kısıtlar ve ince tane boyutunu koruyarak mukavemeti artırır. Ancak, bu yöntemlerle daha yüksek mukavemet elde edilse de koersivitede de artış meydana gelmektedir [19].



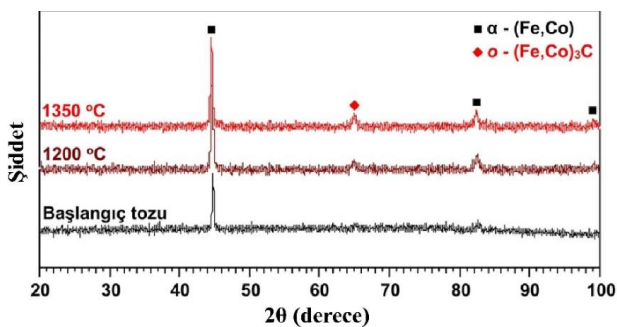
Şekil 3. Sinterleme sonrası parlatılmış numunelerden alınan SEM görüntüleri; a) 1200 °C, b) 1250 °C, c) 1300 °C, d) 1350 °C

Şekil 4'te dağlama işleminden sonra alınmış SEM görüntüleri verilmiştir. 1250 °C'de sinterlenen numuneye ait SEM görüntüsünde yoğunluk incelemelerinde ulaşılan sonuçlarla uyumlu olarak bol miktarda iri boyutlu ve düzensiz şekilli gözenek bulunduğu görülmektedir. Çalışmada parçacık boyutu küçük tozlar kullanılmış olmasına rağmen 1250 °C'de sinterlenen numunenin yer yer 30-40 µm aralığında iri boyutlu taneler içerdiği görülmektedir. Bu, sinterleme işleminin tane irileşmesine neden olduğunu göstermektedir. 1350 °C'de sinterlenen numunenin SEM görüntüsünde çok daha iri boyutlu taneler mevcut olup, artan sinterleme sıcaklığı ile tane irileşmesi daha belirgin bir hal almıştır. Silva et al. [16] tarafından yapılan çalışmada da sinterleme sıcaklığındaki artışla birlikte tane boyutu önemli ölçüde artmıştır. İnce taneli mikroyapıya sahip malzemelerin iri taneli olanlara kıyasla daha üstün fiziksel ve mekanik özellikler sergileyeceği iyi bilinen bir katedir [13-15]. Özellikle FeCo alaşımlarında hem mekanik özellikler hem de manyetik özellikler açısından tane boyutu önemli etkilere sahiptir [16, 19]. FeCo alaşımlarının mukavemetini artırmak amacıyla uygulanan tane inceltme, katı çözültü oluşturma ve çökeltme sertleşmesi gibi işlemlerin manyetik özelliklerde azalmaya neden olduğu vurgulanmıştır [19]. Ticari alaşımlarda, düşük oranda karbon ile niyobyum ve tantal gibi karbür oluşturu elementlerin eklenmesi sayesinde ince karbür çökeltileri oluşur. Bu ince karbürlerin varlığı, son tavlama işlemi sırasında tane büyümesini kısıtlar ve ince tane boyutunu koruyarak mukavemeti artırır. Ancak, bu yöntemlerle daha yüksek mukavemet elde edilse de koersivitede de artış meydana gelmektedir [19].



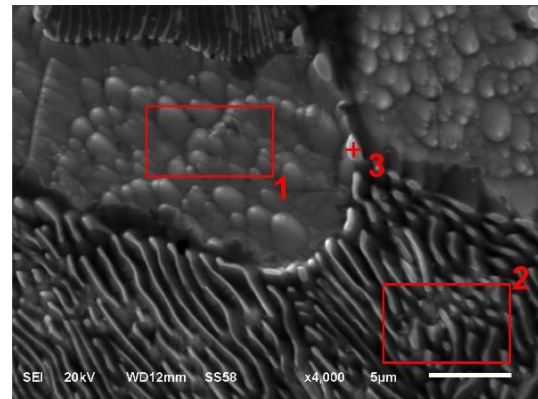
Şekil 4. Dağlanmış numunelerden alınan SEM görüntüleri; a) 1250 °C, b) 1350 °C

Şekil 5'te, başlangıç tozuna, 1200 °C'de ve 1350 °C'de sinterlenen numunelere uygulanan XRD analizlerinden elde edilen kırınım desenleri verilmiştir. Hem başlangıç tozunun hem de sinterlenmiş numunelerin kırınım desenleri malzemeyi oluşturan ana bileşenin Fe ve Co'ın meydana getirdiği α fazı olduğunu göstermektedir. Sinterleme işlemlerinin α fazının pik şiddetinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Başlangıç tozunun kırınım deseninde $65^\circ 2\theta$ açısında herhangi bir pik bulunmamasına rağmen sinterlenmiş numunelerin XRD desenlerinde söz konusu 2θ açısında çok belirgin bir pik oluşmuştur. Sinterleme sıcaklığının artması ile şiddeti artan bu pikin $(Fe,Co)_3C$ fazına ait olduğu tespit edilmiştir. Başlangıç tozu hiç karbon içermediği halde sinterleme işlemlerinden sonra $(Fe,Co)_3C$ fazının oluşması, bağlayıcı giderme işlemlerine rağmen mikroyapıda kalıntı karbon kaldığını göstermektedir. Li et al. [20] tarafından döküm tekniği ile üretilen $(Fe_{0,5}Co_{0,5})_x-(Mo_{0,1}Co_{0,2}B_{0,5}Si_{0,2})_{100-x}$ ($x = 95, 90$ ve 85) alaşımlarında da $(Fe,Co)_3C$ fazının oluştuğu bildirilmiştir.



Şekil 5. Başlangıç tozunun, 1200 °C ve 1350 °C'de sinterlenmiş numunelerin XRD analizi kırınım desenleri

Şekil 6'da 1350 °C'de sinterlenmiş numuneden alınmış SEM/EDS analizlerine ait görüntü ve kimyasal bileşim değerleri verilmiştir. SEM görüntüsünde malzemenin iki farklı faz tanelerinden oluştuğu görülmektedir. Yapılan EDS alan analizleri, 2 rakamı ile gösterilen alan analizinin alındığı fazın 1 rakamı ile gösterilen alan analizinin alındığı faza oranla çok daha yüksek karbon içerdiğini göstermiştir. Karbon oranı yüksek olan fazın lamelli bir yapı sergilediği görülmektedir. XRD analizi ile malzeme içerisinde $(Fe,Co)_3C$ karbürlerinin oluşmuş olduğu belirtilmişti. Bu XRD bulgusuna dayanılarak yüksek karbon içeren fazın (Alan 2) Fe-Co katı çözeltisi üzerinde $(Fe,Co)_3C$ karbür lamellerinden oluşmuş olduğu söylenebilir. Yukarıda da belirtildiği gibi Fe-Co katı çözeltisi üzerinde bu karbürlerin oluşması, bağlayıcı giderme sürecinde tamamen uzaklaştırılmamış kalıntı karbon nedeniyle oluşmuştur. 3 rakamı ile gösterilen ve tane sınırında yer alan çökeltinin üzerinden alınan EDS nokta analizi, çökeltide yüksek oranda karbon bulunduğunu gösterdiğinden bu çökeltinin de Fe ve Co elementleri tarafından oluşturulmuş bir karbür fazı olduğu açıktır. Fe ve Co elementleri tarafından oluşturulan bu karbürler tane içlerinde lameller, tane sınırlarında ise blok morfolojili çökelti halindedir. Li et al. [20], sert ve yumuşak fazların uygun hacimsel dağılım ve ortalama boyutlar ile mekanik özellikleri geliştirebileceğini belirtmişlerdir.

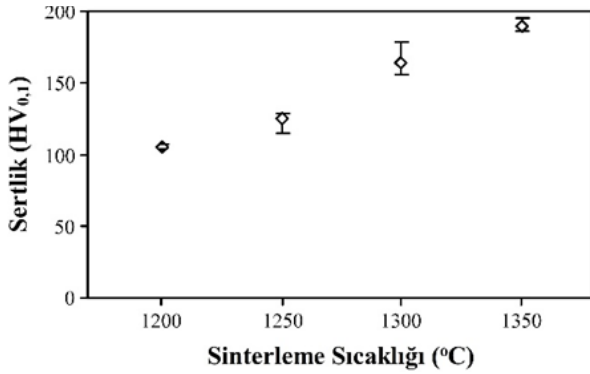


Element	Alan 1	Alan 2	Nokta 3	Birim	
C	2,135	14,736	16,671	Wt.%	
Fe	52,468	45,682	50,594	Wt.%	
Co	45,398	39,582	32,736	Wt.%	
	100,000	100,000	100,000	Wt.%	Toplam

Şekil 6. 1350 °C'de sinterlenen numuneye ait SEM/EDS analizi

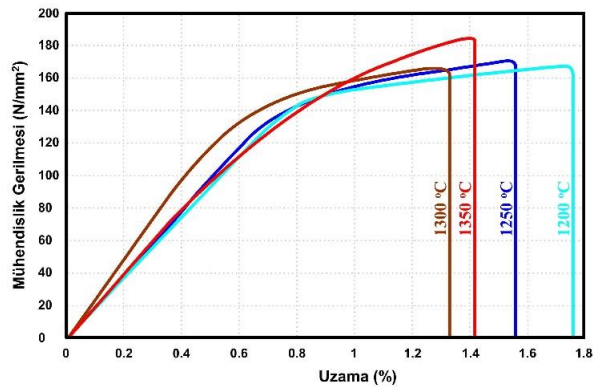
Şekil 7'de sinterleme sıcaklığına bağlı olarak üretilen numunelerden elde edilen sertlik değerleri verilmiştir. Sinterleme sıcaklığındaki artışla birlikte sertlik değerlerinin de arttığı görülmektedir. Bu durum, artan sinterleme sıcaklığı ile daha yüksek bağl yoğunluk elde edilmesine bağlanmaktadır. Çünkü T/M teknikleri ile üretilen malzemelerde gözenek miktarındaki azalma ve yoğunluktaki artışın diğer mekanik özelliklerde olduğu gibi sertliği de artırdığı bilinmektedir [14]. Hosoda et al. [10] tarafından FeCo alaşımlarının sertliğinin soğuk şekillendirme ile artış gösterdiği ifade edilmiştir. Bununla birlikte henüz soğuk deformasyon uygulanmamış olan FeCo alaşımlarının sertliğinin yaklaşık 200 HV olduğu belirtilmiştir [10]. Şimdiki

çalışmada, 1350 °C’de gerçekleştirilen sinterleme işlemi ile Hosoda ve arkadaşları tarafından belirtilen sertlik değerine yakın sertlik değerleri elde edilmiştir.



Şekil 7. Sinterleme sıcaklığına bağlı olarak sertlik değişimi

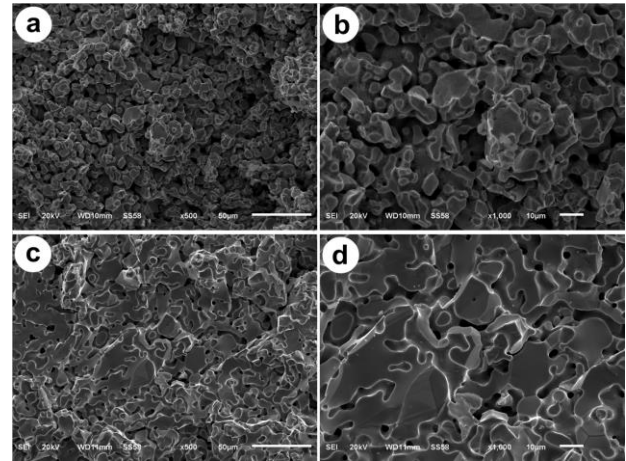
Şekil 8’de farklı sinterleme sıcaklıklarının üretilen numunelerin çekme dayanımı ve sünekliğine etkileri görülmektedir. Sinterleme sıcaklığının artması çekme dayanımının artmasını sağlamıştır. En yüksek çekme dayanımı 184.7 N/mm² ile 1350 °C’de sinterlenen numunede elde edilmiştir. Mikroyapı incelemelerinde, artan sinterleme sıcaklığının tane irileşmesine neden olduğu belirtilmiştir. Tane boyutunun artması, oda sıcaklığındaki mukavemet değerlerinin düşmesine neden olmaktadır [21,22]. Ancak, hem yoğunluk ölçümleri hem de mikroyapı incelemeleri, artan sinterleme sıcaklığının tane irileşmesine neden olmasına rağmen gözenek boyutunun ve miktarının azalmasını; gözenek geometrisinin küreselleşmesini sağladığını göstermiştir. Tüm bunlar birlikte ele alındığında TEK yöntemi ile üretilen malzemelerin mukavemet değerleri üzerinde gözenek özelliklerinin tane boyutundan daha çok etki ettiği sonucu çıkarılabilir. Genel olarak tüm numunelerde çok düşük yüzde uzama değerleri elde edilmiştir. Daha yüksek oranda gözenek içermesine rağmen düşük sıcaklıkta üretilen numunelerin daha yüksek uzama değerleri sergilediği görülmüştür. XRD analizi, artan sinterleme sıcaklığı ile malzeme içerisindeki karbür lamellerinin oranının arttığını göstermiştir. Süneklikte meydana gelen düşüş karbür lamellerinin miktarının artmasına bağlanmaktadır.



Şekil 8. Farklı sıcaklıklarda sinterlenen numunelerin çekme diyagramları

Şekil 9’da 1200 ve 1350 °C’de sinterlenen numunelerin çekme deneyinden sonra kırılma yüzeylerinden farklı büyütme oranları ile alınan SEM görüntüleri verilmiştir.

1200 °C’de sinterlenen numunenin kırılma yüzeyinde yüksek oranda gözenek bulunduğu ve gözeneklerin birbirleriyle bağlantılı düzensiz geometriye sahip gözenekler olduğu görülmektedir. 1350 °C’de sinterlenen numunede ise çok daha küçük boyutlu ve küresel şekilli gözenekler bulunmaktadır. Hiçbir kırılma yüzeyinde gamze şeklinde çukurcuk (dimple) oluşumu bulunmamaktadır. Hem bu hem de çekme deneylerinden elde edilen yüzde uzama değerleri birlikte ele alındığında numunelerin gevrek kırılma sergiledikleri söylenebilir. Özellikle 1350 °C’de sinterlenen numuneye ait görüntülerden kırılmanın tane içlerinde gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Literatürde FeCo alaşımlarının oldukça kırılma eğilimli oldukları belirtilmiş olup [7,8], TEK yöntemi ile üretilen numunelerde de durum değişmemiştir. Bu gevrekliğin giderilebilmesi için FeCo alaşımlarına çeşitli alaşım elementleri ilave edilebilmekte ve/veya ısıl işlemler yapılabilmektedir [4,19]. Ancak bu, sünekliği artırmasına rağmen manyetik özelliklerde düşüşe neden olmaktadır [16].



Şekil 9. Kırılma yüzeylerinden farklı büyütme oranları ile alınan SEM görüntüleri; a) ve b) 1200 °C, c) ve d) 1350 °C

4. SONUÇLAR

Fe₅₀Co_{0,2}Si alaşımından TEK yöntemi ile parça üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimde farklı sinterleme sıcaklıkları denenmiş; üretilen numunelerin yoğunluk ölçümleri, mikroyapı incelemeleri ve mekanik testlerle karakterize edilmiştir. Sinterleme sıcaklığının artması ile daha yüksek yoğunluk değerlerine ulaşılmıştır. En yüksek bağıl yoğunluk %98,82 olarak 1350 °C’de gerçekleştirilen sinterleme işlemi ile elde edilmiştir. Sinterleme sıcaklığının artması yoğunluk değerlerini artırırken tane irileşmesine neden olmuştur. Artan bağıl yoğunluk değerleri, daha yüksek sertlik ve çekme dayanımı elde edilmesini sağlamıştır. Bağlayıcı giderme işlemi ile tamamen uzaklaştırılamayan kalıntı karbon nedeniyle mikroyapıda FeCo katı çözeltili fazına ek olarak (Fe,Co)₃C lamellerini içeren ikinci bir faz oluşmuştur. Üretilen numuneler, çekme deneylerinde tane içinden gevrek bir şekilde kırılmış ve oldukça düşük uzama değerleri göstermişlerdir.

KAYNAKLAR

- [1] Sundar RS, Deevi C. Soft magnetic FeCo alloys: alloy development, processing, and properties. *Int Mat Rev.* 2005;50(3):157–92.
- [2] Abraham T. Magnets and magnetic materials: A technical economic analysis. *JOM* 1995;47(1):16–8.
- [3] Daoush WM. Processing of FeCo nanosized soft-magnetic material by powder metallurgy technique. *Mater Sci Forum* 2007;558-559:707–15.
- [4] Sourmail T. Near equiatomic FeCo alloys: Constitution, mechanical and magnetic properties. *Prog Mater Sci.* 2005;50:816–80.
- [5] Díaz-Ortiz A, Drautz R, Fähnle M, Dosch H, Sanchez JM. Structure and magnetism in bcc-based iron-cobalt alloys. *Phy Rev. B* 2006;73:224208.
- [6] Yang B, Cao Y, Zhang L, Li RF, Yang XY, Yu RH. Controlled chemical synthesis and enhanced performance of micron-sized FeCo particles. *J Alloys Compd.* 2014;615:322–6.
- [7] Gilles R, Hofmann M, Johnson F, Gao Y, Mukherji D, Hugenschmidt C, Pikart P. Analysis of antiphase domain growth in ternary FeCo alloys after different cooling rates and annealing treatments using neutron diffraction and positron annihilation. *J Alloys Compd.* 2011; 509:195–9.
- [8] Hasani S, Shamanian M, Shafyei A, Behjati P, Nezakat M, Fathi-Moghaddam M, Szpunar JA. Influence of annealing treatment on micro/macro-texture and texture dependent magnetic properties in cold rolled FeCo–7.15V alloy. *J Magn Magn Mater.* 2015;378:253–60.
- [9] Zhao L, Baker I. Extrusion processing of FeCo. *J Mater Sci.* 1994;29:742–8.
- [10] Hosoda H, Miyazaki S, Inoue K, Fukui T, Mizuuchi K, Mishima Y, Susuku T. Cold rolling of B2 intermetallics. *J Alloys Comp.* 2000;302:266–73.
- [11] German RM. Powder Injection Molding. In *ASM Handbook: Powder Metal Technologies and Applications.* 1998. p. 831–51.
- [12] Ozgun O, Yılmaz R, Gulsoy HO, Findik F. Toz enjeksiyon kalıplama yöntemi ile üretilen 718 süperalaşım parçalarının kırılma tokluğu ve darbe dayanımı özellikleri. *Tr Doğa ve Fen Derg.* 2015;4(1):1–7.
- [13] Gulsoy HO, Ozgun O, Bilketay S. Powder injection molding of Stellite 6 powder: Sintering, microstructural and mechanical properties. *Mater Sci Eng A* 2016;651:914–24.
- [14] Ozgun O, Gulsoy HO, Findik F, Yılmaz R. Microstructure and mechanical properties of injection moulded Nimonic-90 superalloy parts. *Powder Metall.* 2012;55:405–14.
- [15] Ozgun O, Gulsoy HO, Yılmaz R, Findik F. Injection molding of nickel based 625 superalloy: Sintering, heat treatment, microstructure and mechanical properties. *J Alloys Compd.* 2013;546:192–207.
- [16] Silva A, Lozano JA, Machado R, Escobar JA, Wendhausen PAP. Study of soft magnetic iron cobalt based alloys processed by powder injection molding. *J Magn Magn Mater.* 2008;320(14):e393–e6.
- [17] Simchi A. Densification and microstructural evolution during co-sintering of Ni-base superalloy powders. *Metall Mater Trans A* 2006;37: 2549–57.
- [18] Vervoort PJ, Vetter R, Duszczek J. Overview of powder injection molding. *Adv Perform Mater.* 1996;3:121–51.
- [19] Sundar RS, Deevi SC. Influence of alloying elements on the mechanical properties of FeCo–V alloys. *Intermetallics* 2004;12:921–7.
- [20] Li R, Liu G, Stoica M, Eckert J. FeCo-based multiphase composites with high strength and large plastic deformation. *Intermetallics* 2010;18(1):134–9.
- [21] Savaşkan T. Malzeme Bilimi ve Malzeme Muayenesi. 6. Baskı Trabzon: Celepler Matbaacılık; 2012.
- [22] Callister WD, Rethwisch DG. *Materials Science and Engineering: An Introduction.* 8th ed. USA: John Wiley & Sons; 2009.



Ratlarda Kadmiyum Kaynaklı Mide Toksisitesine Karşı Karvakrol'un Etkileri

Sefa KÜÇÜKLER^{1*}, Selçuk ÖZDEMİR², Fatih Mehmet KANDEMİR¹, Cüneyt ÇAĞLAYAN³

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

³ Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Bingöl, Türkiye

Sefa KÜÇÜKLER ORCID No: 0000-0002-8222-5515

Selçuk ÖZDEMİR ORCID No: 0000-0001-7539-0523

Fatih Mehmet KANDEMİR ORCID No: 0000-0002-8490-2479

Cüneyt ÇAĞLAYAN ORCID No: 0000-0001-5608-554X

*Sorumlu Yazar: sefa.kucukler@atauni.edu.tr

(Alınış: 10.04.2020, Kabul: 14.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
 Kadmiyum,
 Karvakrol,
 Mide,
 Oksidatif
 Stres

Öz: Sunulan çalışmanın amacı; ağır metallere olan kadmiyumun (Cd) neden olduğu mide toksisitesine karşı karvakrol (Krv)'nin etkilerinin araştırılmasıdır. Çalışmada Spraque Dawley cinsi 35 adet erkek rat rastgele 5 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, Cd uygulanan grup, Krv 50 mg kg⁻¹ uygulanan grup, Cd + Krv 25 mg kg⁻¹ uygulanan grup ve Cd + Krv 50 mg kg⁻¹ uygulanan grup. Cd'nin glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi antioksidan enzim aktivitelerini ve glutatyon (GSH) düzeylerini azaltıp, lipid peroksidasyonunu (LPO) artırarak oksidatif hasara neden olduğu belirlendi. Ayrıca Cd ile kombine uygulanan Krv uygulamasının GSH seviyesini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı, lipid peroksidasyonunu ise azalttığı tespit edildi. Çalışmada incelenen glikoz düzenleyici protein 78 (GRP78) mRNA transkript seviyesinin Cd grubunda önemli şekilde arttığı, Krv uygulamasının ise bu gene ait ekspresyon seviyesini azalttığı belirlendi. Mide dokusunda Cd toksikasyonu aktive edici transkripsiyon faktör 6 (ATF6) ekspresyonunu arttırdığı, Krv uygulaması ile bu gene ait ekspresyonda düşüş meydana geldiği saptandı.

Sonuç olarak; Cd kaynaklı mide toksisitesinde Krv'nin yararlı etkilerinin olduğu oksidan-antioksidan denge ile GRP78 ve ATF6 ekspresyonları incelenerek tespit edildi.

Effects of Carvacrol Against Cadmium-Induced Stomach Toxicity in Rats

Keywords
 Cadmium,
 Carvacrol,
 Stomach,
 Oxidative
 Stress

Abstract: The aim of this study is investigation of the effects of carvacrol (Crv) against stomach toxicity caused by cadmium (Cd), which is a heavy metal. In the study, 35 male rats of Spraque Dawley were randomly divided into 5 groups: the control group, the group that received Cd, the group received Crv 50 mg kg⁻¹, the group that received Cd + Crv 25 mg kg⁻¹, and the group that received Cd + Crv 50 mg kg⁻¹. It has been determined that Cd causes oxidative damage by decreasing antioxidant enzyme activities such as glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and increasing lipid peroxidation (LPO). In addition, it was found that Crv administration combined with Cd increased GSH level and antioxidant enzyme activities and decreased lipid peroxidation. It was determined that the level of glucose regulated protein 78 (GRP78) mRNA transcript examined in the study increased significantly in the Cd group, while Crv application decreased the expression level of this gene. It was determined that Cd toxicity in the stomach tissue increased activating transcription factor 6 (ATF6) expression and that the expression of this gene decreased with the received of Crv.

As a result, it has been determined by examining the oxidant-antioxidant balance with GRP78 and ATF6 expressions that Crv has beneficial effects on Cd-induced stomach toxicity.

1. GİRİŞ

Kadmiyum (Cd), endüstriyel ve ekolojik sistemdeki en yaygın toksik ağır metallere biridir [1]. Dünya çapında her yıl kadmiyum üretimindeki artış beraberinde kadmiyuma maruz kalma oranını artırmaktadır. Ekolojik sistemde Cd, metalik halde ve farklı elementlerle birleşmiş yapıda bulunur. Cd kirliliği esas olarak gübre endüstrisi, batarya, elektro kaplama, pigment ve plastik üretiminden kaynaklanmaktadır. Havadaki Cd'nin en önemli kaynakları, madencilik, sigara içme, elektronik atıkların geri dönüşümü ve nikel-kadmiyum pillerin yakılmasıdır [2-4]. Cd, düşük dozajlarda bile meydana getirdiği toksisite, uzun biyolojik yarılanma ömrü, vücuttan düşük atılım hızı ve dokularda birikme kabiliyetine sahip en tehlikeli mesleki ve çevresel toksinlerden biridir [5]. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından kategori 1 kanserojen madde olarak tanımlanmıştır [6]. Cd'ye maruz kalmak hem akut hem de kronik doku yaralanmasına neden olabilir. Cd zehirlenmesi maruz kalma yoluna ve maruz kalma süresine göre değişebilmektedir [7]. Cd vücutta kolayca girebilir ve esas olarak oksidatif stres indüksiyonu yoluyla çoklu organ hasarlarına ve hastalıklara neden olur. Cd emildikten sonra kanda dolaşır, kan hücrelerine ve albümine bağlanarak diğer dokulara yayılır [5]. Cd'un toksik etkisinden dolayı hayvanlarda ve insanlarda kardiyovasküler sistem, böbrek, karaciğer, üreme sistemi ve gastrointestinal sistem bozuklukları da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açarak bu organ ve sistemlerde fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir [8].

Gastrointestinal sisteme Cd girişinin başlıca kaynakları içme suyu, sigara (yaklaşık 16 µg/paket) ve diyet ile alımdır. Cd'un bir başka kaynağı da Cd ile kontamine havanın solunmasıdır [6]. Cd kaynaklı gastrik toksisitenin mekanizmasının oksidatif stress olduğu ve antioksidanların temizleme kapasitesi ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) veya süperoksit iyonu (O₂⁻), hidroksil radikali (OH⁻) ve azot oksit (NO) gibi serbest radikallerin kadmiyum kaynaklı gastrik toksisitede önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir [8]. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin hücre içi birikimi, endoplazmik retikulum (ER) stresi olarak bilinen durumun ortaya çıkmasına neden olur. ATF6, ER lümenindeki C-terminali ve sitosole doğru N-terminali ile ER membranına bağlanan üç sensörden biridir [9,10].

Karvakrol (Crv), kekik, karabiber, ve yabani bergamotun uçucu yağında bulunan monoterpenik bir fenoldür. Son zamanlarda özellikle gıda endüstrisinde kullanımı giderek artan karvakrolun antienflamatuar, antioksidan, antitümör, antibakteriyel, antifungal, spazmolitik, hepatoprotektif, vazorelaksant, analjezik, antiparaziter ve antijenotoksik etkileri in-vivo ve in-vitro çalışmalarda ortaya konmuştur [8,11].

Sunulan çalışmada ratlarda Cd kaynaklı mide toksisitesi üzerine doğal bir antioksidan olan Crv'nin muhtemel etkilerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırılarak ortaya konması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 220-250 gr, yaşları 10-12 haftalık olan erkek Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Kafeslerde bulunan hayvanlar, 24±1 ° C sabit sıcaklıkta ve on ikişer (12 h) saatlik karanlık/aydınlık siklüsü sağlanarak kontrollü bir odada tutuldu. Çalışmaya başlanmadan 7 gün önce kafeslerde gruplara ayrılan ratların buldukları ortama adaptasyon sağlamaları için herhangi bir uygulama yapılmaksızın beklendi. Sprague Dawley ratlara yem (pelet) ve su *ad libitum* olarak verildi. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Karar No: 217/2018).

2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kadmiyum klorür ve karvakrol sigma- aldrich firmasından temin edildi. Doz seçiminde önceki literatürlerden yararlanıldı [12,13]. Deneylerde kullanılan diğer kimyasallar analitik saflıkta olup sigma- aldrich firmasından alınmıştır.

2.3. Deneysel Uygulamalar

Deneyde kullanılacak ratlar, her grupta yedi hayvan olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Deney tasarımı aşağıdaki gibi bir kontrol ve dört deney grubunu içermiştir;

1- Kontrol Grubu: 7 gün oral olarak serum fizyolojik verildi.

2- Cd Grubu: Mide toksisitesi sağlamak üzere 25 mg kg gün⁻¹ Cd oral olarak 7 gün verildi [12].

3- Krv Grubu: 50 mg kg vücut ağırlığı gün⁻¹ dozunda Krv 7 gün oral olarak verildi [13].

4- Cd + Krv 25 Grubu: 25 mg kg gün⁻¹ Cd uygulamasından 30 dk. sonra 25 mg kg⁻¹ Krv 7 gün verildi [12,13].

5- Cd + Krv 50 Grubu: 25 mg kg gün⁻¹ Cd uygulamasından 30 dk. sonra 50 mg kg⁻¹ Krv 7 gün verildi [12,13].

2.4. Numunelerin Alınması

Son Cd ve Krv uygulamasından 24 saat sonra (8.gün) ratlar hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edildi. Ratlardan mide dokuları alınarak serum fizyolojik ile kurutularak alınan dokular gen ekspresyonu ile biyokimyasal analizler yapıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Analizlere başlamadan önce mide dokularından gerekli olan miktarlarda tartıldı. Yapılacak analizlerin metodların da belirtilen tamponlarla belirtilen oranda sulandırılarak TissueLyser II (Qiagen) ile homojenizasyon işlemi yapıldı.

2.5. Biyokimyasal Analizler

Mide dokuları homojenatlarında LPO (Lipidperoksidasyon) ürünü olan MDA ölçümü Placer ve ark.'nın [14], GSH düzeyleri Sedlak ve Lindsay'ın [15], GPx aktivitesinin ölçümü Matkovics'in [16], SOD aktivitesinin ölçümü Sun ve ark.'nın [17], KAT aktivitesi Aebi'nin [18] metoduna göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Homojenattaki protein konsantrasyonu, Lowry ve ark.'nın [19] metoduna göre belirlendi.

2.6. Moleküler Analiz

2.6.1. RT-PCR

Öncelikle deneysel gruplardaki ratlardan elde edilen mide dokularından Trizol kullanılarak total RNA

izolasyonu yapıldı. Bu işlem kitin prosedürüne uygun olarak yapıldı. Endoplazmik Retikulum (ER) stresi ile ilişkili olan GRP78 ve ATF6 genlerine ait ekspresyon seviyelerinin Real Time PCR ile ölçülebilmesi için gerekli primer dizileri <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/> ilgili linkindeki Primer Design-3 programı kullanılarak tasarlandı. Daha sonra total RNA'lardan 2-5 µg alındı ve miScript Reverse Transcription Kiti (Qiagen) verilen protokole uygun şekilde kullanılarak cDNA sentezlendi. Real time PCR deneyinde oluşturulan master mix içeriği; Syber Green 2X Rox Dye Master mix (Qiagen), genler için tasarlanmış forward ve reverse primerler, template olarak cDNA'lar ve nükleaz free su. Master mixler hazırlandıktan sonra örnekler Real Time cihazında analiz edildi ve elde edilen Ct değerleri 2^{-ΔΔCT} metoduna uygun olarak hesaplanarak ilgili genlerin ekspresyon seviyeleri belirlendi [20]. Genlerin reaksiyon koşulları ve primer dizileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. GAPDH, GRP78 ve ATF6 genlerine ait qRT-PCR Primer Dizileri

Primer Adı	(5'-3')	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon koşulları (40 cycles)
GAPDH	F: AGTGCCAGCCTCGTCTCATA R: GATGGTGATGGGTTTCCCCT	56	94°C 15 s / 56°C 30 s / 72°C 30 s
GRP78	F: CGCCTGACCCCTGAAGAAAT R: TGGCTTTCCAGCCATTCGAT	57	94°C 15 s / 57°C 30 s / 72°C 30 s
ATF6	F: TCCTCATGGACCCAGGTGAAGAC R: AGTCCAACCTCCTCAGGAACG	57	94°C 15 s / 57°C 30 s / 72°C 30 s

2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 20.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Biyokimyasal veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile belirlenmiş olup çoklu karşılaştırmalar için Duncan testi uygulandı. p<0.05 seviyesindeki sonuçlar anlamlı kabul edildi. Genlere ait ekspresyon seviyeleri analiz etmede GrapPad 7.2 (California, USA) programı kullanıldı.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Değerlendirme

Mide dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde (Şekil 1A) kontrol ve Krv grupları arasında istatistiksel fark olmadığı (p>0.05), Cd grubunda ise bu iki gruba göre önemli derecede artış olduğu (p<0.05) tespit edildi. Cd grubunda yükselen MDA düzeylerinin Cd ile Krv'nin birlikte verildiği gruplarda azaldığı (p<0.05) belirlendi. Ratlara Cd uygulamasının GSH düzeylerine etkisi Şekil 1B'de verilmiş olup, kontrol ile Krv gruplarına göre Cd grubunda glutatyon depolarının azaldığı (p<0.05), Cd ile kombine verilen Krv'nin 25 mg kg⁻¹ ve 50 mg kg⁻¹lık gruplarında ise GSH düzeylerinin yükseldiği (p<0.05) görüldü.

Enzimatik antioksidanlardan olan SOD aktivitesi incelendiğinde; (Şekil 2A) kontrol grubuna göre Cd uygulanan gruptaki ratların mide dokularında aktivitenin azaldığı (p<0.05), Cd ile birlikte uygulanan Krv' un her iki dozunda azalan SOD aktivitesinin artırmada etkili

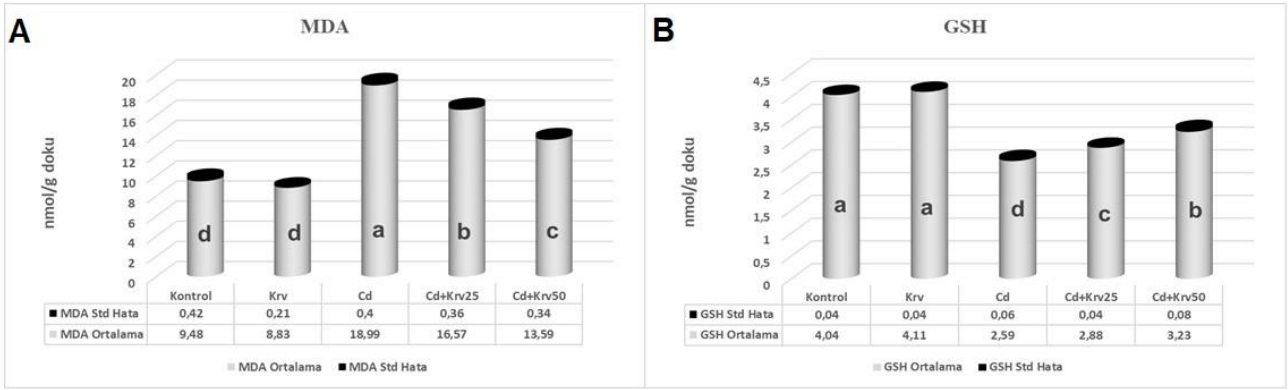
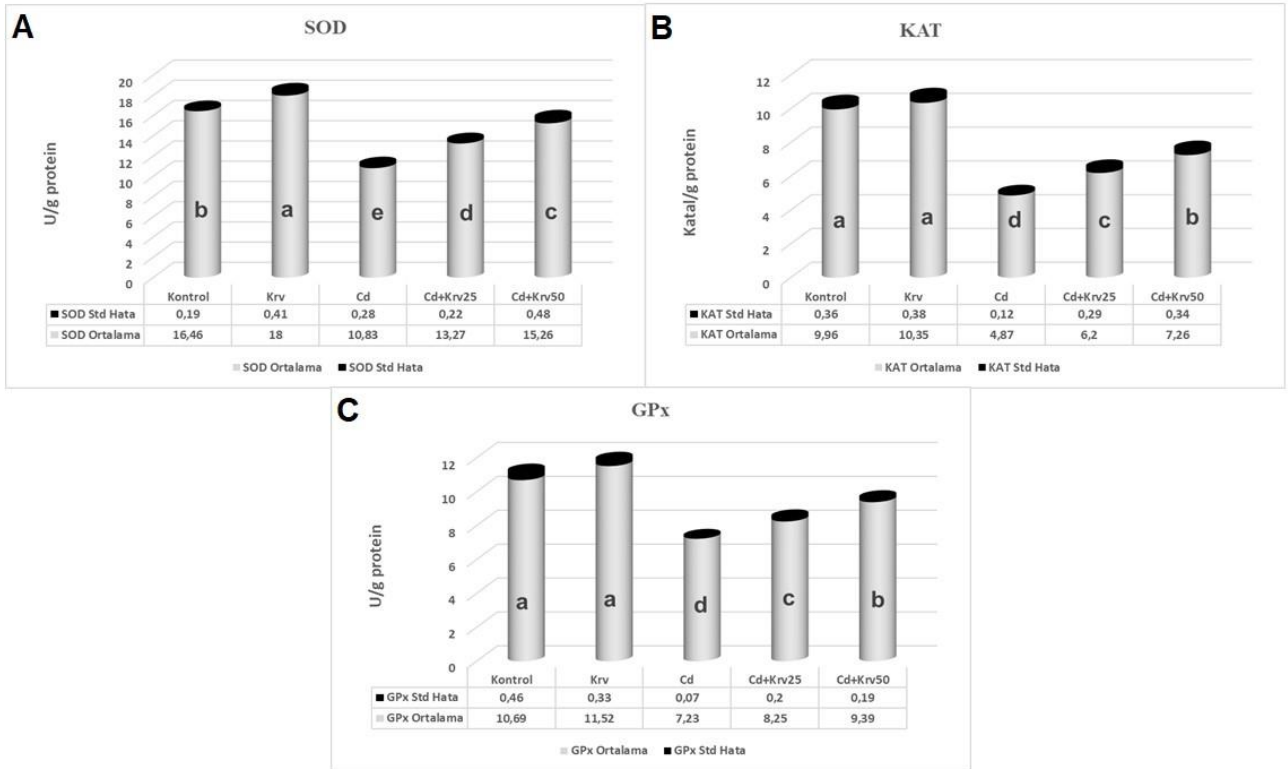
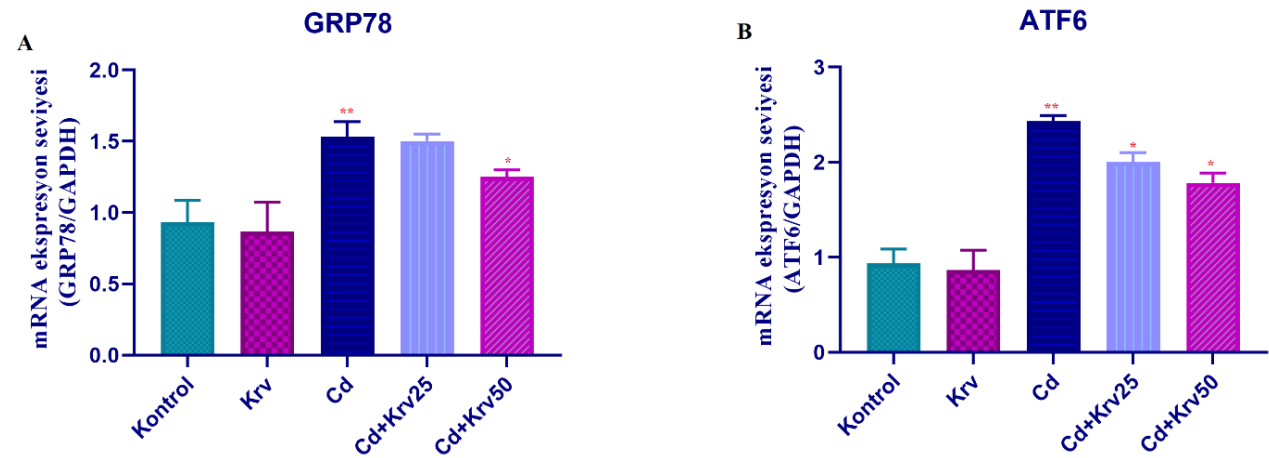
olduğu (p<0.05) tespit edildi. Şekil 2B'de verilen KAT aktiviteleri incelendiğinde, kontrol ve Krv grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı

(p>0.05), Cd uygulanan grupta ise kontrol ve Krv gruplarına göre aktivitede önemli derecede azalma (p<0.05) olduğu gözlemlendi. Cd uygulanan grupta azalan KAT aktivitesinin Cd ile birlikte uygulanan Krv ile yükseldiği (p<0.05) belirlendi.

GPx enzim aktiviteleri incelendiğinde (Şekil 2C); Cd uygulanan grupta, kontrol ile Krv gruplarına göre antioksidan enzim aktivitesinde önemli derecede azalma (p<0.05) olduğu, Cd grubunda azalan GPx aktivitesinin 25 ve 50 mg kg⁻¹lık doz uygulamasıyla arttığı ve her iki doz arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu (p<0.05) tespit edildi.

3.2. GRP78 ve ATF6 Genlerinin Ekspresyon Değerleri

Çalışma sonucunda elde edilen qRT-PCR verileri incelendiğinde (Şekil 3), kontrol ve Krv gruplarında GRP78 (Şekil 3A) ve ATF6'nın (Şekil 3B) ekspresyon profilinde herhangi bir değişimin olmadığı (p>0.05) ancak sadece Cd uygulanan ratların mide dokularında GRP78 ve ATF6'nın mRNA transkript seviyesinin arttığı gözlemlendi (p<0.01). Bunun yanında özellikle Cd + Krv 50 grubunda bu genlere ait ekspresyon seviyesinin sadece Cd uygulanan gruba göre önemli derecede azaldığı belirlendi (p<0.05) (Şekil 3A ve Şekil 3B).

Şekil 1. Mide dokusu MDA (A) ve GSH (B) düzeyleri. Farklı harfler (a, b, c, d), gruplar arası farklılığı ifade eder ($p < 0.05$)Şekil 2. Mide dokusu SOD (A), KAT (B) ve GPx (C) aktiviteleri. Farklı harfler (a, b, c, d), gruplar arası farklılığı ifade eder ($p < 0.05$)

Şekil 3. Deneysel gruplardaki ratların mide dokularında GRP78 ve ATF6 genlerine ait mRNA transkript seviyeleri

4. TARTIŞMA

Ağır metaller arasında önemli bir yere sahip olan Cd esas olarak yer kabuğunda bulunur ve her zaman çinko ile birlikte ortaya çıkar. Çinko, kurşun ve bakır ekstraksiyonunun kaçınılmaz bir yan ürünü olarak oluşan kadmiyumun üretim miktarı, gelişen endüstri ile birlikte her geçen gün artmaktadır. Diğer metallere kıyasla yüksek çözünürlüğü nedeniyle Cd bitkiler tarafından kolayca alınır, gıda ve yem ürünlerinde depolanarak bunları tüketen insan ve hayvanlara geçişi sağlanmış olur [21]. Mevcut çalışmada Cd'un neden olduğu mide hasarı üzerine Krv'nin etkileri araştırılmıştır.

Doku hasarının temelinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimindeki artışın yattığı yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur [22-25]. ROS'un aşırı üretimi nedeniyle oksidan/antioksidan denge bozulmakta, denge oksidan lehine dönerek oksidatif stress tetiklenmektedir [26-28]. ROS üretimindeki artışın şiddetine bağlı olarak oluşan hasar çoğu zaman geri dönüşümsüz olmaktadır [29,30].

Cd deneysel koşullar altında bazı türlerde çeşitli toksisite mekanizmaları sergiler. Cd, oksidatif stres sonucunu, membran lipitlerinin oksidatif bozulmasına, protein hasarına ve alternatif gen ekspresyonu ile DNA hasarına neden olur. Ayrıca, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) dahil olmak üzere önemli antioksidan sistem üyelerinin tükenmesine neden olur [31,32]. MDA hücre zarı hasarının en önemli göstergesidir [33,34]. Gastrik MDA düzeylerindeki artış ile birlikte antioksidan savunma sisteminin reaktif oksijen türlerini inhibe etme ve serbest radikallerin oluşumunu önlemedeki yetersizliği gastrik toksisiteye neden olan lipit peroksidasyonunun artmasına neden olmaktadır [35,36]. Cd proteinler ve protein olmayan sülfhidril grupları, makromoleküller ve metalotiyonin ile etkileşime girmektedir [37,38].

Cd'un metabolizması ve atılımı, Cd maruziyetinden sonra metallothionein oluşturan antioksidanların ve tiyollerin varlığına bağlıdır ve bu da GSH seviyeleri ile yakından ilişkilidir. GSH depolarındaki yeterlilik Cd toksisitesini azaltmada önemli bir faktördür [39].

GPx, GSH'ı substrat olarak kullanan ve hidrojen peroksidin detoksifikasyonundan sorumlu olan enzimatik antioksidanlardan biridir. GSH depolarının tükenmesi bu antioksidanı substrat olarak kullanan GPx aktivitesinde azalmaya ve sonuç olarak antioksidan kapasitede düşmeye neden olur. Canlı organizmada sitozol (CuZn-SOD), mitokondri (Mn-SOD) ve plazma (EC-SOD) gibi çeşitli hücre kompartmanlarında bulunan SOD, süperoksitin hidrojen perokside dönüşmesini hızlandırabilir ve oluşan hidrojen peroksit KAT tarafından su ve moleküler oksijene parçalanır [40-42]. Cd'nin SOD molekülündeki çinko veya mangan ile yer değiştirebildiği ve bunda SOD aktivitesinde azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir. SOD aktivitesindeki bu değişim hidrojen peroksidin üretiminin

yetersiz kalmasına ve buna bağlı KAT aktivitesinin kaybına neden olmaktadır [5].

Mevcut bilgiler ışığında, sunulan çalışmada Cd'un mide dokusunda lipid peroksidasyona neden olarak MDA seviyesini artırdığı ve hücrelerin membran bütünlüğünü bozduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte GSH seviyelerindeki azalmanın Cd kaynaklı glutatyon depolarının azalmasından kaynaklandığı saptanmıştır. Cd'un SOD, KAT ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinde de azalmaya neden olduğu ve antioksidan savunma sistemini baskılayarak mide toksisitesine neden olduğu anlaşılmaktadır.

ROS ve Endoplazmik Retikulum (ER) stresi, mitokondri yoluyla apoptotik süreçlere aracılık eder [43]. Cd, ER stresini indükler ve daha sonra inositol gerektiren enzim 1 (IRE1), protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (PERK) ve aktive edici transkripsiyon faktör 6 (ATF6)'yı Glikoz düzenleyici protein 78 (GRP78) ve CHOP yoluyla aktive ederek apoptozun indüksiyonuna yol açar [44]. GRP78, ER stresinin merkezi bir düzenleyicisidir ve IRE1 yolu kaynaklı apoptoz, kaspaz-3'ü içerir [45]. Bununla birlikte ER stres yolağının önemli moleküllerinden biri olan ATF6 mRNA ekspresyonunun Cd uygulaması ile arttığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur [46,47]. Mevcut çalışmada da Cd uygulamasının GRP78 mRNA transkript seviyesini ve ATF6 mRNA ekspresyonunu önemli şekilde artırdığı tespit edilmiştir.

Alternatif tıptaki hızlı gelişim kimyasal ve toksik ajanların meydana getirdiği yan etkiler ve hasarlara karşı doğal antioksidanların kullanımını artırmış ve çalışmaların bu alanda odaklanmasına neden olmuştur. Günümüzde farklı toksikasyon modellerinde çok sayıda bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlar kullanılmış ve bir çoğunda bu antioksidanların yararlı etkileri ortaya konmuştur [48-50]. Sunulan çalışmada da Cd kaynaklı mide hasarı üzerine Krv'un 25 ve 50 mg kg⁻¹'lık dozlarının etkinliği araştırılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre; Krv uygulamasının mide dokusunda MDA düzeylerini azalttığı ve GSH seviyelerini ise artırdığı belirlenmiştir. GPx aktivitesinde Krv'nin her iki dozununda aktiviteyi artırdığı bunda GPx'in substratı olan GSH seviyesinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı zamanda Krv'un ratların mide dokularında SOD ve KAT aktivitesinin artırdığı, SOD aktivitesindeki artışın muhtemelen SOD'un kofaktörleri ile Cd'un yer değiştirmesinin Krv tarafından gerçekleştiği, bunun sonucu dolaylı olarak H₂O₂ deki artıştan dolayı KAT aktivitesinin arttığı tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmada Krv uygulamasının Cd tarafından ekspresyonu artırılan GRP78 ve ATF6' seviyelerini azalttığı ve ER stresini hafifletmede etkili olduğu saptanmıştır.

5. SONUÇ

Cd uygulamasının mide dokularında hücreleri oksidatif ve ER stresine sürükleyerek ciddi toksisiteye neden olduğu, Krv'nin ise oluşan Cd kaynaklı mide

toksitesini hafiflettiği tespit edildi. Elde edilen verilere göre Krv'nin Cd kaynaklı mide toksitesine karşı yararlı olduğu fakat alternatif tedavi protokollerine eklenebilmesi için ileri düzey çalışmaların gerekliliği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Rahman Z, Singh VP. The relative impact of toxic heavy metals (THMs)(arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. *Environ Monit Assess.* 2019; 191.7: 419.
- [2] El-Boshy M, Ashshi A, Gaith M, Qusty N, Bokhary T, AlTaweel N, et al. Studies on the protective effect of the artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract against cadmium toxicity-induced oxidative stress, hepatorenal damage, and immunosuppressive and hematological disorders in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017;24(13):12372-12383.
- [3] Haouem S, El Hani A. Effect of cadmium on lipid peroxidation and on some antioxidants in the liver, kidneys and testes of rats given diet containing cadmium-polluted radish bulbs. *J Toxicol Pathol.* 2013; 26.4: 359-364.
- [4] Kriegel AM, Soliman AS, Zhang Q, Ghawalby NE, Ezzat F, Soutan A et al. Serum cadmium levels in pancreatic cancer patients from the East Nile Delta region of Egypt *Environ Health Perspect.* 2006; 114.1: 113-119.
- [5] Naglaa E. Effect of Aqueous Extract of *Glycyrrhiza glabra* on the Biochemical Changes Induced by Cadmium Chloride in Rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 2019;190(1):87-94.
- [6] Alaei P, Khodarahmi P, Salehipour M. Effect of repeated injection of cadmium on Bax/Bcl-2 mRNA Level in stomach of rats. *Int J Med Sci.* 2018;5(2):133-140.
- [7] Saleh RM, Awadin WF. Biochemical and histopathological changes of subacute cadmium intoxication in male rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017;24(32):25475-25481.
- [8] Wardani G, Eraiko K, Sudjarwo SA. Protective activity of chitosan nanoparticle against cadmium chloride induced gastric toxicity in rat. *J Young Pharm* 2018;10(3):303.
- [9] Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell.* 1999;10(11), 3787-3799.
- [10] Xu X, Lei T, Li W, & Ou H. Enhanced cellular cholesterol efflux by naringenin is mediated through inhibiting endoplasmic reticulum stress-ATF6 activity in macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 2019; 1864.10: 1472-1482.
- [11] Aksu EH, Kandemir FM, Altun S, Küçükler S, Çomaklı S, Ömür AD. Ameliorative effect of carvacrol on cisplatin- Induced reproductive damage in male rats. *J Biochem Mol Toxic* 2016;30(10):513-520.
- [12] Kim KS, Lim H-J, Lim JS, Son JY, Lee J, Lee BM, et al. Curcumin ameliorates cadmium-induced nephrotoxicity in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2018;114:34-40.
- [13] Bayramoglu G, Senturk H, Bayramoglu A, Uyanoglu M, Colak S, Ozmen A, et al. Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced diabetic rats. *Cytotechnology*, 2014; 66(2), 251-257.
- [14] Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.* 1966;16(2):359-364.
- [15] Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968;25:192-205.
- [16] Matkovic B. Determination of enzyme activity in lipid peroxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnostika* 1988;15:248-250.
- [17] Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988;34(3):497-500.
- [18] Aebi H. *Methods in enzymology.* vol. 105. Packer, ed., Academic, NY 1984:121-126.
- [19] [19] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
- [20] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *methods* 2001;25(4):402-408.
- [21] Sarwar N, Malhi SS, Zia MH, Naeem A, Bibi S, Farid G. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *J. Sci. Food Agric.* 2010;90(6):925-937.
- [22] Kandemir FM, Yıldırım S, Kucukler S, Caglayan C, Darendelioğlu E, Dortbudak MB. Protective effects of morin against acrylamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity: A multi-biomarker approach. *Food Chem Toxicol* 2020;138:111190.
- [23] Kandemir FM, Caglayan C, Aksu EH, Yildirim S, Kucukler S, Gur C, et al. Protective effect of rutin on mercuric chloride- induced reproductive damage in male rats. *Andrologia* 2020.
- [24] Çelik H, Kandemir FM, Caglayan C, Özdemir S, Çomaklı S, Kucukler S et al. Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. *Mol. Biol. Rep.* 2020;47(3):2023-2034.
- [25] Temel Y, Kucukler S, Yıldırım S, Caglayan C, Kandemir FM. Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2020;393(3):325-337.
- [26] Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, Özdemir S, Caglayan C, Yardım A, et al. Morin attenuates ifosfamide-induced neurotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, neuroinflammation

- and neuronal apoptosis. *NeuroToxicology* 2020;76:126-137.
- [27] Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioglu E, Yıldırım S, Kucukler S, Dortbudak MB. Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. *J Trace Elem Med Bio* 2019;56:60-68.
- [28] Sakat MS, Kilic K, Kandemir FM, Yildirim S, Sahin A, Kucukler S, et al. The ameliorative effect of berberine and coenzyme Q10 in an ovalbumin-induced allergic rhinitis model. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2018;275(10):2495-2505.
- [29] Aksu EH, Kandemir FM, Yıldırım S, Küçükler S, Dörtbudak MB, Çağlayan C, et al. Palliative effect of curcumin on doxorubicin- induced testicular damage in male rats. *J Biochem Mol Toxic* 2019;33(10):e22384.
- [30] Kandemir FM, Kucukler S, Çağlayan C. Ratlarda Methotrexate Kaynaklı Karaciğer Toksisitesine Karşı Silymarin ve Naringin'in Yararlı Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2017;12(2):167-177.
- [31] Patra R, Rautray AK, Swarup D. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *J. Vet. Med. Sci.* 2011;2011.
- [32] Nair AR, DeGheselle O, Smeets K, Van Kerkhove E, Cuypers A. Cadmium-induced pathologies: where is the oxidative balance lost (or not)? *Int J Mol Sci* 2013;14(3):6116-6143.
- [33] Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Eser G. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019;26(22):22562-22574.
- [34] Kuzu M, Yıldırım S, Kandemir FM, Küçükler S, Çağlayan C, Türk E, et al. Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chem. Biol. Interact.* 2019;308:89-100.
- [35] Singh P, Mogra P, Bano H, Sankhla V, Deora K, Barolia S, et al. Protective and preventive effects of curcumin against cadmium chloride induced gastrointestinal toxicity in Swiss albino mice. *World j. sci. technol.* 2012;2(12):10-17.
- [36] de Oliveira Leite G, Penha ARS, da Silva GQ, Colares AV, Rodrigues FFG, Costa JGM, et al. Gastroprotective effect of medicinal plants from Chapada do Araripe, Brazil. *J Young Pharm* 2009;1(1):54.
- [37] Rebelo FM, Caldas ED. Arsenic, lead, mercury and cadmium: Toxicity, levels in breast milk and the risks for breastfed infants. *Environ. Res.* 2016;151:671-688.
- [38] Nwokocho C, Nwokocho M, Owu D, Edidjana E, Nwogbo N, Ekpo U, et al. Estimation of absorbed cadmium in tissues of male and female albino rats through different routes of administration. *Niger. J. Physiol. Sci.* 2011;26(1).
- [39] Patrick L. Toxic metals and antioxidants: part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. *Altern Med Rev* 2003;8(2).
- [40] Caglayan C, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Eser G. Rutin protects mercuric chloride-induced nephrotoxicity via targeting of aquaporin 1 level, oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. *J Trace Elem Med Bio* 2019;54:69-78.
- [41] Hanedan B, Ozkaraca M, Kirbas A, Kandemir FM, Aktas MS, Kilic K, et al. Investigation of the effects of hesperidin and chrysin on renal injury induced by colistin in rats. *Biomed Pharmacother* 2018;108:1607-1616.
- [42] Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S, Mahamadu A. Improvement in colistin- induced reproductive damage, apoptosis, and autophagy in testes via reducing oxidative stress by chrysin. *J Biochem Mol Toxic* 2018;32(11):e22201.
- [43] Gobe G, Crane D. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney. *Toxicol. Lett.* 2010;198(1):49-55.
- [44] Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis* 2009;14(8):996-1007.
- [45] Greenblatt D, Wygnanski I. Effect of leading-edge curvature on airfoil separation control. *J. Aircr.* 2003;40(3):473-481.
- [46] Chou X, Ding F, Zhang X, Ding X, Gao H, Wu Q. Sirtuin-1 ameliorates cadmium-induced endoplasmic reticulum stress and pyroptosis through XBP-1s deacetylation in human renal tubular epithelial cells. *Arch. Toxicol.* 2019;93(4):965-986.
- [47] Jin Y, Zhang S, Tao R, Huang J, He X, Qu L, et al. Oral exposure of mice to cadmium (II), chromium (VI) and their mixture induce oxidative- and endoplasmic reticulum- stress mediated apoptosis in the livers. *Environ. Toxicol.* 2016;31(6):693-705.
- [48] Ekinci Akdemir FN, Yildirim S, Kandemir FM, Tanyeli A, Küçükler S, Bahaeddin Dortbudak M. Protective effects of gallic acid on doxorubicin-induced cardiotoxicity; an experimental study. *Arch Physiol Biochem* 2019:1-8.
- [49] Kilic K, Sakat MS, Yildirim S, Kandemir FM, Gozeler MS, Dortbudak MB et al. The amendatory effect of hesperidin and thymol in allergic rhinitis: an ovalbumin-induced rat model. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2019;276(2):407-415.
- [50] Ekinci-Akdemir FN, Yildirim S, Kandemir FM, Gülçin İ, Küçükler S, Sağlam YS, et al. The effects of casticin and myricetin on liver damage induced by methotrexate in rats. *Iran J Basic Med Sci* 2018;21(12):1281.



Compton Scattering Measurements of Ar and O₂ Using 59.54 keV Gamma-rays

Erdem ŞAKAR^{1*}, Ali GÜROL¹

¹Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Erzurum, Türkiye

Erdem ŞAKAR ORCID No: 0000-0002-1359-4464

Ali GÜROL ORCID No: 0000-0001-9494-3533

*Corresponding author: erdem@atauni.edu.tr

(Alınış: 09.04.2020, Kabul: 19.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Keywords

Compton profile,
Scattering,
Hartree-Fock method,
Gamma-rays,
Electron momentum distribution

Abstract: In this study, it has been investigated of the Compton profiles (CP) of the Ar and O₂ gases using a Compton spectrometer having annular ²⁴¹Am radioactive source. The photons emitted from the radioactive source and scattered photons from the samples were recorded using HPGe detector. In order to obtain experimental Compton profiles of the samples the Warwick codes were used. The experimental results obtained were compared with the theoretical results calculated by Hartree-Fock method. The results clearly show that the experimental and theoretical results are in good agreement, especially in the high momentum region. It was observed that while the difference between the experimental and theoretical results of Ar and O₂ gases in the $p_z = 0$ region is about 4%, this difference is below 1% after $p_z = 2$.

59.54 keV'lik Gama-ışınları Kullanılarak Ar ve O₂'nin Compton Saçılma Ölçümleri

Anahtar Kelimeler

Compton profile,
Saçılma,
Hartree-Fock metodu,
Gama-ışınları,
Elektron momentum dağılımı

Öz: Bu çalışmada, dairesel ²⁴¹Am radyoaktif kaynağa sahip bir Compton spektrometresi kullanılarak Ar ve O₂ gazlarının Compton profilleri araştırılmıştır. Radyoaktif kaynaktan yayınlanan fotonlar ve numunelerden saçılan fotonlar HPGe detektörü kullanılarak kaydedildi. Numunelerin deneysel Compton profillerini elde etmek için Warwick kodları kullanıldı. Elde edilen deneysel sonuçlar Hartree-Fock yöntemi ile hesaplanan teorik sonuçlarla karşılaştırıldı. Sonuçlar, özellikle yüksek momentum bölgesinde deneysel ve teorik sonuçların uyumlu olduğunu açıkça göstermektedir. $p_z = 0$ bölgesindeki Ar ve O₂ gazlarının deneysel ve teorik sonuçları arasındaki fark yaklaşık % 4 iken $p_z = 2$ 'den sonra bu farkın % 1'in altında olduğu görülmüştür.

1. INTRODUCTION

In Compton scattering, which is the inelastic scattering of X or gamma rays from electrons, scattered photons are exposed to a Doppler broadening due to the velocity of the electrons. This broadened line shape is directly related to the momentum of electrons in the target material and is called Compton profile. The theory of the CP is mainly based upon impulse approximation (IA). According to this approximation, the collision process occurring between the photon and target material electrons takes place in a very short period of time, and accordingly, the potential energy of the material remains constant in this process [1,2].

The spectrum of the inelastically scattered photons is related to the electron momentum distribution of the investigated material. For this reason, the CP of any material can be obtained using ground-state electron momentum density ($n(\mathbf{p})$) [3,4]:

$$J(p_z) = \iint n(\mathbf{p}) dp_x dp_y \quad (1)$$

where p_x , p_y and p_z are the electron momentum components in Cartesian coordinates, and $n(\mathbf{p})$ can be calculated by following:

$$n(\mathbf{p}) = \sum_i \left| \int \psi_{i(r)} \exp(-i\vec{p} \cdot \vec{r}) dr \right|^2 \quad (2)$$

where $\psi_{i(r)}$ is the electron wave functions (WFs). Based on this, the CP involve knowledge with regard to the WF's and the orbital-wise electron occupation. This matchless property of the inelastic scattering technique for researching the WF's has been utilized to analyze the force of the approximation techniques in the electronic structure calculations.

There are many studies in literature for determining the CP of solids and liquids [1,2,5]. Conversely, there are a limited number of studies on CP measurements of gases. Eisenberger and Platzman [6] determined the electron momentum distributions of He and H₂ gases by Compton scattering and demonstrated that the experimental results obtained for He were in good agreement with the Hartree-Fock theoretical results. In experimental measurements made by Eisenberger and Reed [7] using 160 keV gamma rays emitted from ¹²³Te source, the CP's of helium, nitrogen, argon and krypton gases were measured. The data obtained were compared with HF results and they obtained the HF calculations for Ar and Kr gases differ less than 1% at $q = 0$ from experimental data. This study also revealed the conclusion that gamma ray use in CP measurements will produce more accurate results than X ray use. Tong and Lam [8] made CP measurements for some inert gases. They compared the experimental results with the theoretical profiles obtained using both HF and LDA (local density approximation). Accordingly, the LDA method exhibited good results in elements with high atomic numbers, excluding the tail region where contains the effects of multiple scattering.

Kobayashi et al. [9] determined the Compton profile of nitrogen gas using synchrotron radiation, and compared the obtained experimental results with previous studies. They showed that the new results were about 0.05% different from the previous results at $q = 0$. Sakurai et al. [10] measured the CP of some inert gases using the same spectrometer. They compared the results of the experiments with Dirac-Hartree-Fock calculations. The most interesting result in this comparison was the mismatch between the increasing atomic number and the experiment and theory. This study highlights the importance of considering electron correlations in relativistic calculations. Ma et al. [11] conducted CP measurements of NO and C₂H₂ gases with stimulating photons of 20 keV in the center of BL15U1 Shanghai Synchrotron Radiation Facility (SSRF). This study revealed that Synchrotron Radiation sources should be used in experimental CP measurements and the results should be supported by stronger theoretical models such as DFT instead of HF.

In the present study, Compton profiles of argon and oxygen gases are presented using 59.54 keV gamma rays emitted from ²⁴¹Am radioactive source. The results obtained were compared with the theoretical results obtained with the HF method, and the causes of

harmonization and incompatibilities in different momentum transfer regions were tried to be explained.

2. MEASUREMENTS AND DATA ANALYSIS PROCEDURE

Compton profile measurements were performed using a well-designed Compton spectrometer shown in Figure 1. In this experimental geometry, the measured experimental mean scattering angle is 165°. The properties of the spectrometer and detector used in the experiment were explained in our previous study [3]. Total resolution of the experiment including geometrical broadening was 0.65 a.u. In order to decrease the statistical errors, the live time of the experiment was set to 4.4×10^5 s. The measured spectrums of the Ar and O₂ gases are given in Fig 2 and 3.

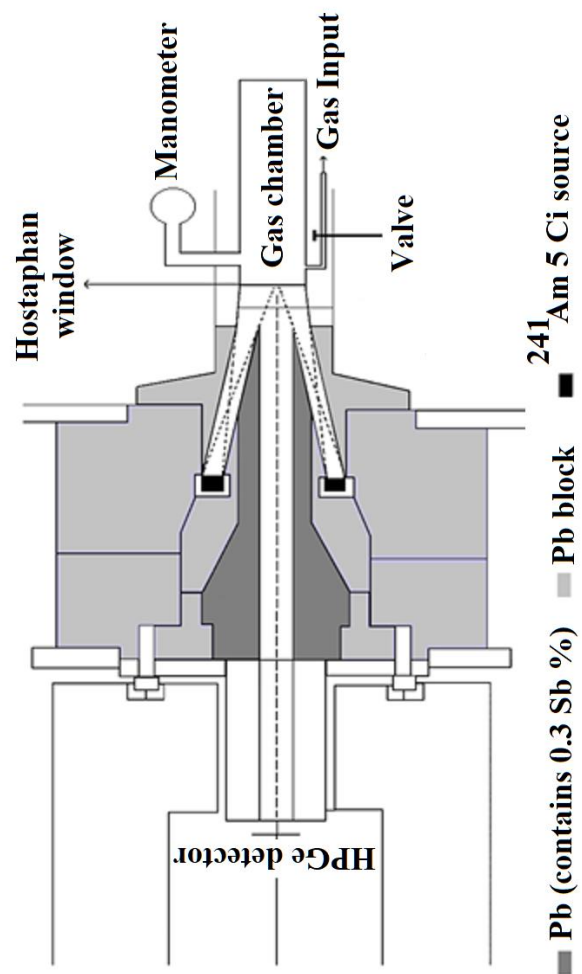


Figure 1. Experimental setup

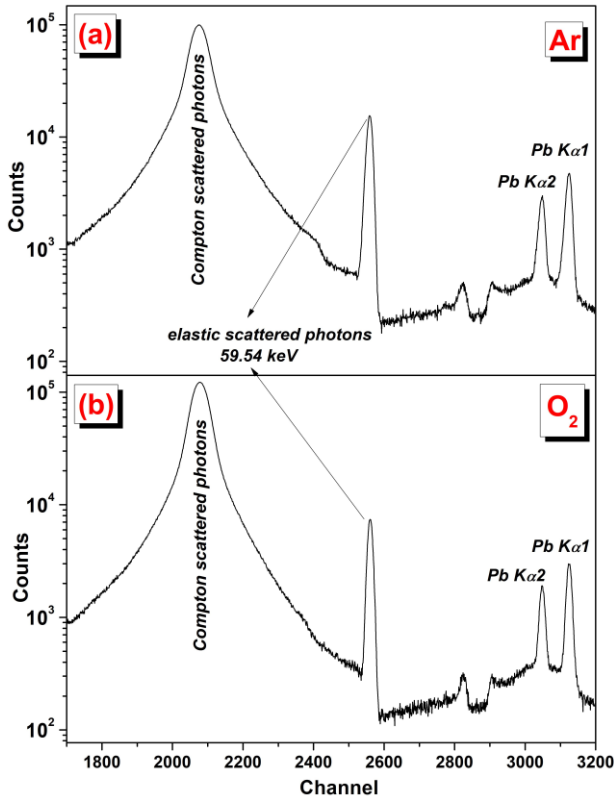


Figure 2. Compton spectrums of the Ar (a) and O₂ (b)

The gas chamber used in this study was first vacuumed and the air inside was evacuated. The gases were then taken into the sample chamber with the help of the tube connected to the gas cell. In this process, the pressure of the sample room was checked at regular time intervals and the ambient temperature was measured regularly using a GOERZ type thermoscript.

Various systematic corrections should be applied to the measured raw spectrum ($M(w)$) to obtain CP of the investigated samples. These corrections are given by equation 3.

$$C(w) = G(w)X(w)A(w)[M(w) - B(w)] \quad (3)$$

where $B(w)$, $G(w)$, $A(w)$ and $X(w)$ are the background, efficiency, sample self-absorption and relativistic cross-section corrections, respectively [12].

The self-absorption and relativistic Compton cross section corrections can be calculate using equations 4 and 5, respectively.

$$A(w) = \frac{[\mu(w_2)cscn_1 + \mu(w_1)cscn_2]t}{1 - \exp\{-t[\mu(w_2)cscn_1 + \mu(w_1)cscn_2]\}} \quad (4)$$

where t is the sample thickness, μ is the linear absorption coefficient (LAC), and n_1 and n_2 are the angle of incident and scattered in reference to the sample surface, respectively. The LAC values were taken from WinXCOM [13] based Phy-X/PSD [14] software.

$$X(w) = \frac{1}{2c^2} \frac{w_2}{w_1} [c \sqrt{w_1^2 + w_2^2 - 2w_1w_2 \cos\phi} + q(w_1 - w_2)]^{-1} B \quad (5)$$

$$B = \frac{w_1(1 + q/c)}{w_2(1 - q/c)} + \frac{w_2(1 - q/c)}{w_1(1 + q/c)} + 2c^2 \left[\frac{1}{w_1(1 + q/c)} - \frac{1}{w_2(1 - q/c)} \right] + c^4 \left[\frac{1}{w_1(1 + q/c)} - \frac{1}{w_2(1 - q/c)} \right]^2 \quad (6)$$

Detailed descriptions of well-known terms used in equations 5 and 6 are available in Williams 1977 [2]. Finally, the corrected data $C(w)$ were deconvoluted with detector resolution function using equation 7 and, all spectrums normalized relative to the number of electrons of the samples.

$$\int_{-\infty}^{+\infty} J(P_z) dz = \frac{1}{T} \int_{-\infty}^{+\infty} (C(w) * R(w)) dw \frac{dq}{dw} = N \text{ electrons} \quad (7)$$

In the experimental data analysis, the software prepared by Warwick University Compton research group was used [15].

3. RESULTS AND DISCUSSION

The Compton profiles of the experimentally measured Ar and O₂ gases and their theoretical results obtained using the HF method are shown in Figures 3 and 4, respectively. The X axis (p_z values) in these profiles is directly related to the positions of electrons in the orbitals. It is known that electrons in inner orbitals move at relatively higher speeds than electrons in outer orbitals. This allows the inner orbital electrons to have higher momentum values. For these reasons explained, regions with low p_z values in Compton profile spectra are generally created by outer orbitals (valence) electrons, while large p_z values are created by core electrons. Also, unlike valence electrons, the core electrons do not play a role in chemical bonding process, and are also less affected by external influences such as pressure and temperature. Therefore, the wave functions of the core electrons are largely similar to the free electron wave functions. Thus, the Hartree-Fock Compton profiles obtained from free electron wave functions generally comply with experimental data in regions controlled by core electrons (large p_z values). This is clearly seen in the Compton profiles of the Ar and O₂ gases given in Fig 3 and 4. In these figures, in general, the Compton profiles of the measured both gases are in agreement with the HF theoretical results calculated using the free electron wave functions. In particular, this harmony reached better levels in high momentum regions ($p_z > 3$ a.u.) in both gases. However,

in the lowest momentum regions (from $p_z=0$ a.u. to $p_z=2$ a.u.) there is some incompatibility due to both the known deficiencies of the HF model and the various difficulties of CP measurements for gases. Because gas molecules are in constant motion, their Compton profiles are difficult to measure precisely, and their precise CP values can only be obtained using very powerful radioactive sources like synchrotron.

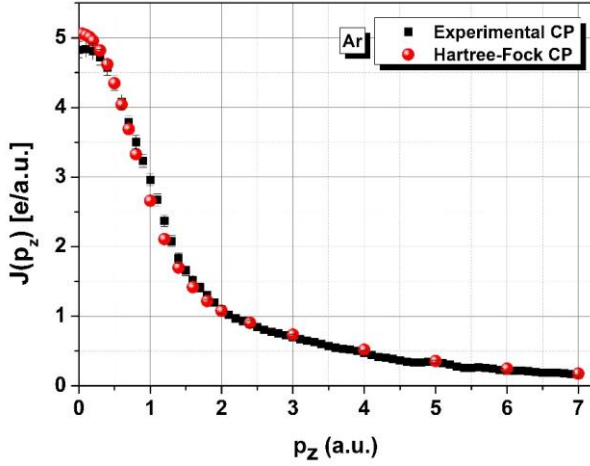


Figure 3. Experimental and theoretical Compton profile of the Ar

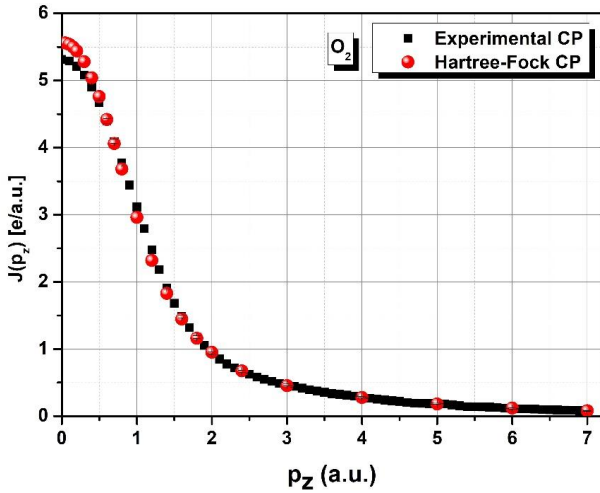


Figure 4. Experimental and theoretical Compton profile of the O₂

The relative comparisons of the experimental and theoretical results obtained were calculated with the following equation and are shown in Figs 5 and 6 for Ar and O₂ gases, respectively:

$$\Delta J(p_z) = \frac{J_x(p_z) - J(p_z)}{J(0)} \times 100 \quad (8)$$

When Fig 5 is examined, at $p_z = 0$ a.u., there is a 4.51% difference between the experimental and theoretical CP values of Ar gas. It is clearly seen from this graph that this difference decreases gradually in parallel with increasing electron momentum values. As explained earlier, as p_z increases, the contribution of core electrons in the CP spectrum increases, and since real wave functions of these electrons are very similar to free electron wave functions, their Compton profiles greatly match the results obtained with the HF method. Similar situation is valid for O₂ gas. However, the concordance

of the experimental and theoretical results of the O₂ gas are in better than the results obtained for the Ar gas. As a matter of fact, after $p_z = 1.6$ a.u. for O₂ gas, the difference between theory and experiment decreased to less than 1%. The main reason that oxygen gives more harmonious results than argon gas can be thought to be its atomic number lower than Ar. Because, in the article Sakurai (2015) [10], it is mentioned that the effects of electron correlations effects should be taken into consideration in the relativistic calculations made for atoms with large atomic numbers or molecules containing these atoms.

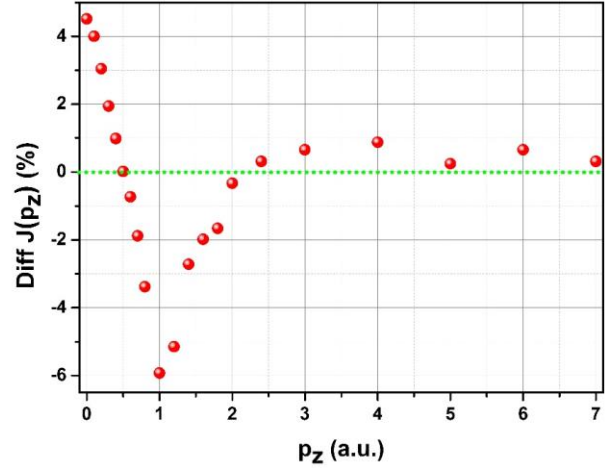


Figure 5. The relative differences between experimental and theoretical Compton profile results of the Ar

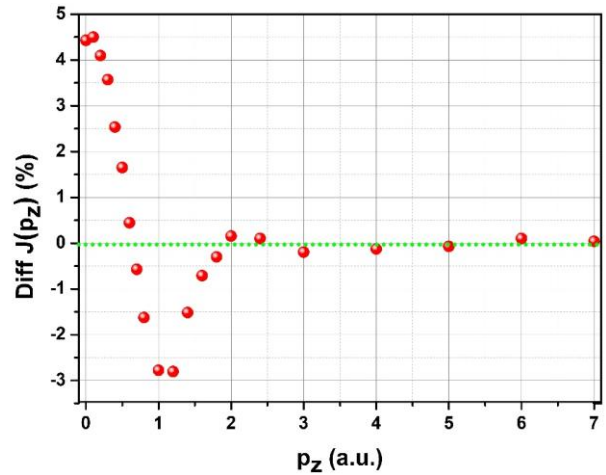


Figure 6. The relative differences between experimental and theoretical Compton profile results of the O₂

It is known that accurate CP results can only be obtained using powerful radioactive sources in well-designed Compton spectrometers. The researchers lacking a synchrotron source perform their experiments at long measurement times to reach accurate experimental data in solid samples. However, the prolonged measurement time in gas samples increases the already existing stability problem. For this reason, the use of synchrotron sources is absolutely necessary in the Compton profile measurements of gas samples. Moreover, the experimental data obtained must be compared with the theoretical results calculated by DFT (density functional theory) methods, which include more detailed effects

such as electron correlation, exchange and crystallization.

4. CONCLUSION

Compton profiles of Ar and O₂ gases were measured experimentally using 59.54 keV gamma photons emitted from the ²⁴¹Am source. A well-designed Compton spectrometer was used in experimental measurements. The obtained results are compared with the theoretical results obtained with the HF method. It has been determined that the experimental CP measurements of Ar and O₂ gases are in good agreement with the theoretical results calculated with HF, and the results of the O₂ gas are closer to the theoretical results. Finally, it has been mentioned that the importance of using synchrotron sources in CP experiments related gases and the necessity of making theoretical calculations with new and more accurate methods such as DFT.

REFERENCES

- [1] Cooper MJ. Compton scattering and the study of electron momentum density distributions. *Radiat. Phys. Chem.* 1997;50(1): 63-76.
- [2] Williams BG. *Compton Scattering: The Investigation of Electron Momentum Distributions*: McGraw-Hill International; 1977.
- [3] Şakar E, Akbaba U, Zukowski E, Gürol A. Gamma and neutron radiation effect on Compton profile of the multi-walled carbon nanotubes. *Nucl. Instrum. Meth. B.* 2018; 437:20-26.
- [4] Meena BS, Heda NL, Kumar K, Bhatt S, Mund HS, Ahuja BL. Compton profiles and Mulliken's populations of cobalt, nickel and copper tungstates: Experiment and theory. *Physica B: Condensed Matter.* 2016; 484, 1-6.
- [5] Schülke W, *Electron dynamics by inelastic X-ray scattering*. Oxford University Press. 2007.
- [6] Eisenberger P, Platzman PM, Compton Scattering of X-Rays from Bound Electrons. *Phys Rev A.* 1970; 2(2), 415-423.
- [7] Eisenberger P, Reed WA. Gamma-Ray Compton-Scattering - Experimental Compton Profiles for He, N₂, Ar, and Kr. *Phys Rev A.* 1972; 5(5), 2085-2094.
- [8] Tong BY, Lam L, Compton Profiles of Ne, Ar, and Kr. *Phys Rev A.* 1978; 18, 552-558.
- [9] Kobayashi K, Ito M, Hosoya T, Tsuji N, Sakurai Y, Sakurai H, Accurate Compton scattering measurements for N-2 molecules. *J Phys B-at Mol Opt* 44. 2011; 115102: 4pp.
- [10] Sakurai H, Ota H, Tsuji N, Ito M, Sakurai Y, Accurate Compton scattering measurements of noble gases: the importance of electron correlations in heavy atoms. *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 44. 2011; 065001 (4pp).
- [11] Ma YP, Zhao XL, Liu YW, Xu LQ, Kang X, Ni DD, Yan S, Zhu LF, Yang K, Investigation of Compton profiles of NO and C₂H₂. *Acta Phys Sin.* 2015; 64 (15).153302.
- [12] Weyrich W. Electron Momentum Distribution in Solid Potassium Fluoride, Studied by Compton-Scattering. *Ber Bunsen Phys Chem.* 1975; 79 (11), 1085-1095.
- [13] Gerward L, Guilbert N, Jensen KB, Levring H. WinXCom- a program for calculating X-ray attenuation coefficients. *Radiat. Phys. Chem.* 2004; 71(3), 653-654.
- [14] Şakar E, Özpolat ÖF, Alım B, Sayyed MI, Kurudirek M. Phy-X/PSD: Development of a user friendly online software for calculation of parameters relevant to radiation shielding and dosimetry. *Radiat. Phys. Chem.,* 2020; 166, 108496.
- [15] Timms DN. Ph.D. Thesis (Unpublished), University of Warwick, UK, 1989.



Elazığ Karakoçan Yöresi Buzağı ve Danalarında *Eimeria* Türlerinin Yaygınlığı

Yunus ESEN^{1*}, Ahmet BOZDAĞ²

¹ Bingöl Üniversitesi, Solhan Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü, Bingöl, Türkiye.

² Karakoçan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Elazığ, Türkiye

Yunus ESEN ORCID No: 0000-0002-6231-1467

Ahmet BOZDAĞ ORCID No: 0000-0002-2995-4137

*Sorumlu yazar: yesen@bingol.edu.tr

(Alınış: 27.03.2020, Kabul: 19.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
 Karakoçan,
 Buzağı,
Eimeria,
 Yaygınlık

Öz: Bu çalışmada, Elazığ Karakoçan ilçesi ve ilçeye bağlı köylerinde yaşayan buzağı ve danalarda Coccidiosis hastalığına sebep olan *Eimeria* türleri ve bu türlerin yaygınlığı tespit edilmiştir. Karakoçan yöresinde İlçe Merkezi, Sarıcan Beldesi, Başyurt, Bulgurcuk, Kalecik, Demirdelen ve Yenikaya köyleri olmak üzere toplam 7 farklı bölgeden materyal toplanmıştır. Bu süre içerisinde 1-12 aylık 119 tane buzağı ve dananın dışkı numunesi alınmıştır. Mikroskopik incelemeler neticesinde bu dışkı numunelerinin 60 (%50,42) tanesinde *Eimeria* spp. ookistleri tespit edilmiştir. Ookist bulunduran dışkı örneklerine %2,5 potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ilave edilmiş ve örneklerin sporlanmasından sonra tür tayinleri yapılmıştır. İncelemeler sonucunda dana ve buzağuların; *Eimeria bovis* (%45), *E. ellipsoidalis* (%30), *E. auburnensis* (%28,3), *E. alabamensis* (%26,6), *E. zuerni* (%25), *E. clindirica* (%13,3) olmak üzere toplam 6 tür tarafından enfekte olduğu görülmüştür. Enfekte hayvanların 37'sinde (%61,6) tek tür enfeksiyon tablosu mevcutken, 23'ünde (%38,4) miks enfeksiyon belirlenmiştir. En fazla yaygınlık 6-12 aylık yaşları arasında, simental ırkında, Yenikaya ve Demirdelen köyleri civarındaki hayvanlarda görülmüştür. Dişilerin %58,8 (40 birey) ve erkeklerin %39,2 (20 birey) enfekte olduğu tespit edilmiştir.

24

The Prevalence of *Eimeria* Species in Calves in Elazığ Karakoçan Region

Keywords
 Karakoçan
 district,
 Calves,
Eimeria,
 Prevalence

Abstract: In this study, *Eimeria* species that are causing coccidiosis disease and their prevalence were determined in Karakoçan district (Elazığ Province) and its villages. The materials were taken from different regions: Karakoçan center, Sarıcan Town, Başyurt, Bulgurcuk, Kalecik, Demirdelen, and Yenikaya villages. Within this period, the feces samples were taken from 119 calves aged between 1-12 months. Microscopic examination was resulted as 60 (50.42%) of the samples were infected with *Eimeria* spp. oocysts. The feces samples containing oocysts were blended solution of 2.5% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) in the petri dishes and the species identification was performed after the sporulation. Results of examinations, the calves were infected with a total of six species i.e. *E. bovis* (45%), *E. ellipsoidalis* (30%) *E. auburnensis* (28.3%) *E. alabamensis* (26.6%), *E. zuerni* (25%), *E. clindirica* (13.3%). The pure and mix infection rates were 61.6% and 38.4%, respectively. The most prevalence has been seen in the animals that are at 6-12 month-old, Simmental race, and around Yenikaya and Demirdelen villages. It has been determined that female 58.8% (40 individuals) and male 39.2% (20 individuals) are infected.

1. GİRİŞ

Eimeria, kanatlı hayvanlar başta olmak üzere, sığır, keçi, koyun, tavşan gibi birçok hayvan türünde görülen, Apicomplexa şubesinde yer alan bir protozoa cinsidir. Hayat döngüsü bir konakta geçen bu parazitin hücresel özellikleri konağa yerleşmesine olanak sağlar. Ookist,

sporozoit ve merozoit olmak üzere üç hayat evresine sahiptir. Çeşitli hayat devirlerinde hem eşeyli, hem de eşeysiz üreme geçirirler. *Eimeria* ile enfekte olmuş hayvanlarda ishal, yorgunluk ve iştahsızlık şeklinde kendini gösteren coccidiosis hastalığı görülür. Coccidiosis hayvanların enfekte olmuş besinleri yemesi veya dışkı ile teması sonucu yayılır. Sonuçta kümes hayvanları ve memeli hayvan yetiştiriciliğinde her sene

büyük miktarlarda maddi kayıplara neden olmaktadır [1].

Sığırlarda Eimeriidae ailesine bağlı *Eimeria* ve *Isospora* cinslerine ait türler coccidiosis sebepleri olur. *Eimeria* ve *Isospora* türleri, tüm evcil ve yabani hayvanlarda görülen, özellikle dana ve buzağı gibi hayvanlarda hemorojik diyare, depresyon, zayıflama, kilo azalması ve bazen de ölüme sebep olabilir [2,3].

Sığırlarda coccidiosis, tüm yaş gruplarında görülmeyle beraber buzağılarda (0-6 ay) ve danalarda (6-12 ay) klinik olarak daha önemlidir. *Eimeria* türleri genellikle 3 haftalıktan 6 aya kadar olan buzağılarda ciddi enfeksiyonlara yol açmaktadır. Sığırlarda coccidiosis sebepleri olan türlerden en patojen olanları *E. zuernii* ve *E. bovis*'tir. Bu türler özellikle buzağılarda hemorojik diyareye sebep olurlar [2].

Dünyanın çeşitli ülkelerinde coccidiosis yayılımı ile ilgili bilimsel araştırmalar yapılmıştır [2,4-9]. Yapılan bu araştırmalar sonucu dünyada 17 *Eimeria* ve 2 *Isospora* türünün sığır coccidiosisine neden olduğu, 11 *Eimeria* ve 1 *Isospora* türünün ise ülkemizde sığır coccidiosisine neden olduğu bildirilmiştir [6-10].

Bu çalışmada Doğu Anadolu'nun önemli hayvancılık merkezlerinden biri olan Elazığ Karakoçan yöresi buzağı ve danalarında *Eimeria* türlerinin yaygınlığının saptanması hedeflenmiştir. Bu çalışmayla *Eimeria* türlerinin neden olabileceği hastalıklar, korunma yolları ve parazit faunasının tespitine destek olmak amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma kapsamında Elazığ Karakoçan ilçe Merkezi, Sarıcan Beldesi, Başyurt, Bulgurcuk, Kalecik, Demirdelen, Yenikaya köyleri (Şekil 1) olmak üzere toplam 7 yerleşim yerinden 119 buzağı ve danadan alınan dışkı numuneleri alınmıştır. Materyal toplanacak köyler, Elazığ Karakoçan ilçesinin geneli hakkında bilgi sahibi olmayı sağlayacak şekilde belirlenmiştir.

Karakoçan ilçe merkezi ve belirlenen köylere gidilerek buzağı ve danalardan rastgele dışkı örnekleri toplanmıştır (Tablo 1). Dışkı örnekleri ayrı ayrı kaplara konarak numunesi alınan hayvana ait bilgiler kayıt altına alınmıştır. Numuneler en kısa süre içerisinde Bingöl Üniversitesi Biyoloji Araştırma Laboratuvarı'na getirilmiş ve inceleninceye kadar +4 °C'de saklanmıştır.

Karakoçan ilçe merkezi ve köylerden toplanan ve laboratuvarında +4 °C'de muhafaza edilen dışkı örnekleri, doymuş tuzlu su santrifüj flotasyon yöntemi kullanılarak muayene edilmiştir [1,11]. *Eimeria* oökitlerinin görüldüğü numuneler ayrılarak daha sonra oökitlerin sporlandırılması amacıyla saklanmıştır. *Eimeria* oökitleri bakımından pozitif numunelerden yeterli miktarda alınıp her biri farklı kap içerisinde %2,5'lik potasyum dikromat (K₂Cr₂O₇) karıştırılıp bu karışım hazır halde bekletilen petri kaplarına konularak oda ısısında beklemeye alınmışlardır. Sporlanmanın rahat gerçekleşmesi için gündüzleri iki saatte bir mevcut petri kaplarındaki karışım sporlanmada gerekli olan oksijen için ayrı bir baget yardımı ile karıştırılmıştır. Sporlanmadan sonra numuneler doymuş tuzlu su santrifüj flotasyon yöntemi ile incelenip ilgili literatürler [1,7,9,12] eşliğinde, sporlanan oökitlerin morfolojik özelliklerinden yararlanarak tür tayinleri yapılmıştır. Çalışma sonuçlarının istatistik verilerine ait analizler ki-kare (X²) testi kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 1. Karakoçan'da dışkı bakışı yapılan dana ve buzağuların yerleşim merkezi, yaş, cinsiyet ve ırklarına göre dağılımı

Yerleşim Merkezi	İrk-Cinsiyet				Yaş-Cinsiyet								Toplam	
	Simental		Montofon		0 – 1 ay		1 – 3 ay		3 – 6 ay		6 – 12 ay		♀	♂
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂		
Merkez	6	6	4	1	-	-	2	2	7	4	1	1	10	7
Sarıcan	6	7	3	1	-	3	2	3	5	2	2	-	9	8
Başyurt	7	8	1	1	-	-	4	4	4	4	-	1	8	9
Bulgurcuk	5	4	5	3	1	-	5	1	3	4	1	2	10	7
Kalecik	13	4	-	-	-	-	3	1	3	2	7	1	13	4
Demirdelen	3	8	6	-	-	-	-	1	4	2	5	5	9	8
Yenikaya	8	6	1	2	-	1	-	-	6	3	3	4	9	8
Toplam	48	43	20	8	1	4	16	12	32	21	19	14	68	51

3. BULGULAR

Karakoçan ve köylerinden dışkı numunesi toplanan 119 buzağı ve dananın incelemeler sonucunda 60'ında (%50,42) altı farklı türe ait *Eimeria* spp. oökiti tespit edilmiştir. *Eimeria* türü tespit edilen buzağı ve danaların yerleşim yerlerine göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir. Numune alınan yerleşim merkezlerindeki *Eimeria* türlerinin yaygınlık değerleri %41,18 ile %58,82 arasında değişim gösterip, en yüksek yaygınlık Demirdelen ve Yenikaya köylerinde tespit edilmiştir.

Yerleşim merkezleri arasında yapılan karşılaştırmada görülen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

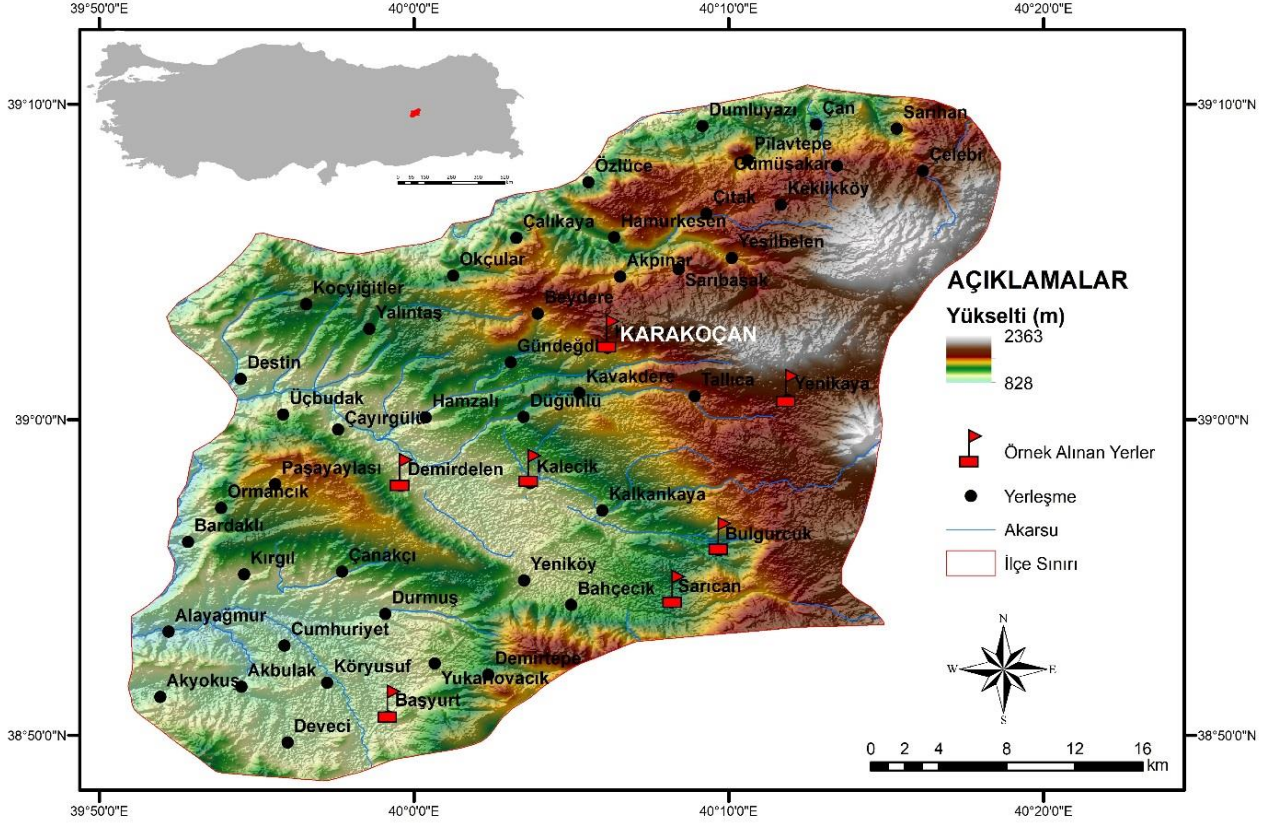
Eimeria türlerinin cinsiyet, yaş ve ırka göre yayılım değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi en yüksek yaygınlık 6-12 aylık yaş grubunda (%60,6) görülmüş, ancak yaş seviyeleri bakımından farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

İrklar arasındaki en yüksek yaygınlık (%51,6) simental

ırkı hayvanlarda tespit edilmiş, ırklar arasında yapılan karşılaştırmada görülen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

Cinsiyetlerine göre hayvanlar karşılaştırıldığında,

dişilerin (%58,8) erkeklerden (%39,2) daha yüksek bir enfeksiyon oranına sahip olduğu belirlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$).



Şekil 1. Dışkı numunelerinin toplandığı yerler

Tablo 3. Elazığ Karakoçan yöresi buzağı ve danalarında *Eimeria* spp. oookistlerinin cinsiyet, yaş ve ırka göre yayılış değerleri

	CİNSİYET		YAŞ				IRK	
	Dişi	Erkek	0-1	1-3	3-6	6-12	Simental	Montofon
İncelenen hayvan sayısı (n)	68	51	5	28	53	33	91	28
Enfekte bulunan hayvan sayısı (n)	40	20	2	9	29	20	47	13
Enfekte bulunan hayvan oranı (%)	58,8	39,2	40	32,1	54,7	60,6	51,6	46,4

Karakoçan yöresi buzağı ve danalarında tespit edilen *Eimeria* türlerinden en yaygın olanı *E. bovis*'tir ve toplamda 27 (%45) hayvanda görülmüştür. En az yaygınlık gösteren tür ise 8 hayvanda bulunan (%13,3) *E. clindirica*'dir.

Tablo 5'te görüldüğü gibi yerleşim yerlerinden toplanan dışkı numunelerinde, *Eimeria* oookistlerine rastlanan hayvanların 37'sinin (%61,6) tek tür, 13'ünün (%21,6) iki tür, 5'inin (%8,3) üç tür, 3'ünün (%5) dört tür, 1'inin (%1,6) beş tür, 1'inin (%1,6) altı tür ile enfekte olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. Elazığ Karakoçan yöresi buzağı ve danalarında tespit edilen *Eimeria* türleri ve enfeksiyon oranları

<i>Eimeria</i> türü	Enfekte hayvan sayısı(n)	Enfeksiyon oranı(%)
<i>E. bovis</i>	27	45
<i>E. ellipsoidalis</i>	18	30
<i>E. auburnensis</i>	17	28,3
<i>E. alabamensis</i>	16	26,6
<i>E. zuernii</i>	15	25
<i>E. clindirica</i>	8	13,3

Tablo 5. Bir veya birden fazla tür ile enfekte hayvan sayıları ve enfeksiyon oranları

Enfeksiyona sebep olan <i>Eimeria</i> tür sayısı (n)	Enfekte hayvan sayısı(n)	Enfeksiyon oranı(%)
1	37	61,6
2	13	21,6
3	5	8,3
4	3	5
5	1	1,6
6	1	1,6

İncelenen 119 hayvan içerisinde, normal görünümüne dışkıya sahip 106 hayvanın 51'inde (%48,1), ishalleri 13 hayvanın 9'unda (%69,2) *Eimeria* spp. oocistleri tespit edilmiştir. Normal dışkıya sahip hayvanlar ile ishalleri dışkıya sahip hayvanlar arasında yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

4. SONUÇ

Dünya genelindeki araştırma ve incelemeler neticesinde sığırlarda coccidiosis sebepleri olan 17 *Eimeria* ve 2 *Isospora* türü bulunmuştur. Bunların; *E. zuernii*, *E. alabamensis*, *E. bukidonensis*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. brasiliensis*, *E. mundaragi*, *E. illinoisensis*, *E. pellita*, *E. bombayensis*, *E. kosti*, *E. thianetti*, *E. cylindrica*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis*, *Isospora aksaica* ve *Isospora sp.* türleri olduğu tespit edilmiştir [9,13-18].

Türkiye'de ise; *E. bovis*, *E. alabamensis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidonensis*, *E. auburnensis*, *E. canadensis*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*, *E. illinoisensis*, *E. subspherica*, *E. cylindrica* olmak üzere 11 *Eimeria* türü ile 1 *Isospora* sp. türü kayıt altına alınmıştır [10,19-37]. Bu çalışmada ise Elazığ Karakoçan yöresinde; *E. bovis*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. alabamensis*, *E. zuernii* ve *E. clindrica* olmak üzere 6 değişik *Eimeria* türü saptanmış, *Isospora* türüne rastlanmamıştır.

Türkiye'de sığır coccidiosis ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda buzağı ve danalarda *Eimeria* türlerinin yaygınlığı %0-93.3 arasında değişmektedir [10,20-37]. Bu çalışmalarda; Ankara'da %16 [24], Elazığ'da %44.6 ve %51.4 [25,26], Samsun'da %6.4 [27], Kars'da %90.8 ve %26.5 [22,28], Trakya bölgesinde %68 [29], Konya'da %23.8 [30], Van'da %52.8, %63.6 ve %22.5 [20,31-33], Bursa'da %49.3 [21], Hakkari'de %89.1 [23], Afyon'da %20 [34], Erzurum'da %25.9 [35], Kırşehir'de %50.6 [10], Niğde'de %10, Edirne'de %0, Denizli'de %60, İstanbul'da %40 ve Antalya'da %0 [36] yaygınlık bildirilmiştir. Sayın [37] 15 farklı ilden topladığı dışkı örneklerindeki oocist yaygınlığını %93.3 olarak bildirmiştir. Daha önceki çalışmaların bir kısmına [20,22,25,26,28,31-33] bakıldığında farklı zamanlarda aynı bölgede tespit edilen *Eimeria* türlerinin yaygınlık oranlarının da farklılık gösterebildiği anlaşılmaktadır. Kesik ve ark. [36] beş farklı ilde yaptıkları çalışmada Edirne ve Antalya'dan elde edilen dışkı örneklerinin hiçbirinde *Eimeria* oocistine rastlanmamıştır. İyi bakım ve beslenme koşullarına rağmen coccidiosis halen problem olduğu görülmektedir.

Bu çalışma sonucunda ortaya çıkan sonuçlar önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında yaş gruplarına göre *Eimeria* türlerinin yaygınlığı benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada 3-6 ay yaş grubundaki hayvanlarda yaygınlık daha fazla olup klinik açıdan ciddi enfeksiyonların en çok görüldüğü yaş aralığı olmasından dolayı bölgede hastalığın önlenmesi önem arz etmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda bölgeye göre dişi ve erkeklerde coccidiosis hastalığına yakalanma oranı farklılıklar gösterebilmektedir [10,20-26]. Bu çalışmada erkeklerde %39,2, dişilerde %58,8 *Eimeria* oocistleri görülmüştür. Cinsiyet oranları karşılaştırıldığında aralarındaki farklılıklar istatistiksel bakımdan önemli görülmüştür.

Ülkemizde sığır coccidiosis ile ilgili yapılan araştırmalarda bir türle meydana gelen enfeksiyon oranının %13,22-%57,1 aralığında, birden fazla türle meydana gelen enfeksiyon oranının ise %39-%72,3 aralığında olduğu yapılan çalışmalar ile kayıt altına alınmıştır [10,11,21,22,25,26]. Bu çalışmada birden fazla tür ile meydana gelen enfeksiyon oranı %38,4, tekli enfeksiyon oranı ise %61,6 olarak kayıt altına alınmıştır.

Miks enfeksiyonlardaki tür sayısını Güleğen ve Okursoy [21] 2, Gül ve ark. [31] 4, Arslan ve Tüzer [11] 6, Sayın [37] 7, Arslan [22] en fazla 8 olarak saptamışlardır. Bu çalışmada miks enfeksiyonlarında en fazla 6 tür tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile Elazığ Karakoçan yöresi buzağı ve danalarındaki *Eimeria* türleri tespit edilmiştir. Altı *Eimeria* türünün yaygınlığı %50,42 oranında saptanmış ve teşhis edilen türlerden sığırlarda en patojen tür olarak *E. bovis* (%45) ve *E. ellipsoidalis* (%30) belirlenmiştir. Yaygınlığın yüksek oranda görülmüş olması, coccidiosis ile mücadele metodlarının önemini bir kez daha göstermiştir. İlçe merkezi ve köylerde bulunan hayvanların beslenme ve barınma alt yapılarının iyileştirilmesi, rutin bakımlarının yapılması, yemlik ve sulukların temizliğine dikkat edilmesi coccidiosis hastalığının yayılmasını önlemede etkili olacağı önerilmektedir. Bununla birlikte 3-6 ay yaş grubundaki hayvanlarda oocist yaygınlığının yüksek olması önem verilmesi gereken hususlardan biri olarak görülmüştür. Karakoçan ilçesinde yapılan bu çalışmanın, bölgede hastalığın boyutlarının anlaşılmasında ve hastalıkla mücadelede katkı sağlayacağına inanılmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma, Doç. Dr. Yunus ESEN danışmanlığında Ahmet BOZDAĞ'ın tamamlamış olduğu "Elazığ Karakoçan Yöresi Buzağı ve Danalarında *Eimeria* Türlerinin Yaygınlığı" isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Arslan MÖ. Sığır ve mandalarda coccidiosis. Türkiye Parazitol. Der. Yay. No: 17, İzmir; 2001.

- [2] Arslan MÖ, Sarı B. Eimeriidae (Memelilerde Coccidiosis). Veteriner Protozooloji, Medisan Yayınevi, Ankara; 2010.
- [3] Gjerde B, Hele O. Effects of leucocyte extract, levamisole and sulphadimidine on natural coccidial infections (*Eimeria* spp.) in young lambs. Acta Vet. Scand. 1987;28(1):33-45.
- [4] Ernst JV, Ciordia H, Stuedemann JA. Coccidia in cows and calves on pasture in North Georgia (U.S.A.). Vet. Parasitol. 1984;15:213-21.
- [5] Oda K, Nishida Y (1990) Prevalence and distribution of bovine coccidia in Japan. Jap J Vet Sci. 1990;52(1):71-7.
- [6] Davies SFM, Joyner LP, Kendal SB. Coccidiosis. 1th Edition, Oliver and Body LTD, Edinburgh, 1963.
- [7] Pellerdy LP. Coccidia and Coccidiosis 2nd Edition, Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg, 1974.
- [8] Levine ND. Veterinary Protozoology, First ed. Iowa State Univ. Press Ames, Iowa, 1985.
- [9] Levine ND, Ivens V. The Coccidian Parasites (Protozoa, Apicomplexa) of Artiodactyla. Illinois Bio. Monogr. 55, Illinois Univ. Pres, Urbana and Chicago, 1986.
- [10] Güven E, Nalbantoğlu S, Orkun Ö, Akçay A, Koçak A (2010) Kırşehir ili Mucur yöresinde sığırlarda görülen *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 2010;16(3):483-6.
- [11] Arslan MÖ, Tüzer E. Prevalence of bovine eimeriosis in Thracia, Turkey. Turk J. Vet. Anim Sci., 1998;22:161-4.
- [12] MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques. References Book, London, 1986.
- [13] McKenna PB. The identity and prevalence of *coccidia* species in sheep and cattle in New Zeland. Veterinary Journal. 1972;20(12):225-8.
- [14] Prokopic J, Pavlasek I. Endoparasites of calves in large herds. Vet Med (Praha). 1977;22(8):505-12.
- [15] Ernst JV, Ciordia H, Stuedeman JA. Coccidia in cows and calves on pasture in north Georgia (USA). Vet Parasitol. 1984;15(3-4):213-21.
- [16] Ali SR, Latif BMA. Bovine *coccidiosis* in Baghdad area-Iraq. J Biol Sci Res. 1989;20(3):483-8.
- [17] Chibunda RT, Muhairva AP, Kanbarage DM, Mtambo MM, Kusiluka LJ, Kazwala RR. Eimeriosis in dairy cattle farms in Morogoro municipaty of Tanzania. Prev Vet Med. 1997;31(3-4):191-7.
- [18] Waruiru RM, Kyvsgaard NC, Thamsborg SM, Nansen P, Bogh HO, Munyva WK, Gathuma JM. The prevalence and intensity of helminth and coccidial infections in dairy cattle in central Kenya. Vet. Res. Commun. 2000;24(1):39-53.
- [19] Özer E, Şaki CE. Türkiye’de *Coccidiosis*. In: Dinçer Ş. Editor. Coccidiosis, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın no: 17; İzmir, 2001. p. 151-62.
- [20] Değer S, Biçek K, Gül A, Eraslan E. Van yöresi buzağı ve danalarında *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2001;7(1-2):69-72.
- [21] Güleğen AE, Okursoy S. Bursa bölgesi sığırlarında coccidiosis etkenleri ve bunların yayılışı. T Parazitol Derg. 2000;24(3):297-303.
- [22] Arslan MÖ. Kars yöresi buzağlarında *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 1997;3(2):141-9.
- [23] Göz Y, Aydın A. Yüksekova (Hakkari) yöresi dana ve buzağlarında coccidiosis etkenlerinin yaygınlığı. Türkiye Parazitol Derg. 2005;29:13-6.
- [24] Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F. Ankara ve civarı sığırlarında coccidiosis olayları üzerine araştırmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1956;3:136-58.
- [25] Dumanlı N, Güler S, Erdoğan Z. Elazığ yöresinde sığırlarda bulunan coccidia etkenleri ve bunların yayılışı. Doğa Türk Vet Hay Derg. 1993;17:223-227.
- [26] Yılmaz K, Özer E, Erkal N. Parazitsiz ve parazitli buzağlarda demir yetersizliği anemisi yönünden araştırmalar. F.Ü. Sağlık Bil. Derg. 1992;7:102-111.
- [27] Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Gürbüz İ. Samsun yöresi sığırlarında parazitler epidemiyolojik çalışmalar. Etlik Vet Mikrob Derg 1994; 7: 153-162.
- [28] Çitil M, Arslan MÖ, Güneş V, Erdoğan HM. Neonatal buzağı ishallerinde *Cryptosporidium* ve *Eimeria* enfeksiyonlarının rolü. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2004;10:59-64.
- [29] Arslan MÖ, Erdoğan HM, Tanrıverdi S. Neonatal buzağlarda *Cryptosporidiosis*’in epidemiyolojisi. 13. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 8-12 Eylül, Konya, 2003. s. 186.
- [30] Aydenizöz M, Aldemir OS, Güçlü F. Dışkı muayenesiyle sığırlarda tespit edilen parazitler ve yayılışları. T Parazitol Derg 1999; 23: 83-88.
- [31] Gül A, Biçek K, Değer S. Van Belediye mezbanasında kesimi yapılan sığırlarda bulunan *Eimeria* türleri ve bunların yayılış oranları. Y.Y.Ü. Vet Fak. Derg. 2000;2(2):12-4.
- [32] Gül A, Çiçek M, Kılınç Ö. Prevalence of *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in calves in the Van province. Türkiye Parazitol Derg 2008;32:202-204.
- [33] Göz Y, Altuğ N, Yüksek N, Özkan C. Parasites detected in neonatal and young calves with diarrhoea. Bull Vet Inst Pulawy 2006;50:345-348.
- [34] Çiçek H, Sevimli F, Kozan E, Köse M, Eser M, Doğan N. Prevalence of coccidia in beef cattle in western Turkey. Parasitol Res. 2007;101:1239-43.
- [35] Aktaş MS, Sarı B, Arslan MÖ. Erzurum ve çevresinde sütçü işletmelerdeki buzağlarda *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 2008;14:25-9.
- [36] Kesik HK, Kılınç ŞG, Şimşek S. Türkiye’nin Farklı İllerinden Elde Edilen Buzağı Dışkılarında *Eimeria* spp. Ookistlerinin Yaygınlığı ve Ookist Yükünün Belirlenmesi. F.Ü. Sağlık Bil. Vet. Derg. 2018;32(2):117-120.
- [37] Sayın F. The species of *Eimeria* occurring in cattle in Turkey. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1970;17:311-26.



Bingöl Koşullarında Karabuğday Çeşitlerinde Ekim Zamanının Ot Verimi ve Kalitesi Üzerine Etkileri

Remziye ALKAY¹, Kağan KÖKTEN^{2*}

¹Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri ABD, 12000 Bingöl, Türkiye

²Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

Remziye ALKAY ORCID No: 0000-0002-0714-7633

Kağan KÖKTEN ORCID No: 0000-0001-5403-5629

*Sorumlu yazar: e-posta: kkokten@bingol.edu.tr

(Alınış: 17.03.2020, Kabul: 19.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Karabuğday,
Bingöl,
Ekim zamanı,
Verim

Öz: Bu çalışma; Bingöl koşullarında karabuğday çeşitlerinde farklı ekim zamanlarının ot verimi ve kalitesine etkisinin belirlenmesi amacıyla, 2018 yılında Bingöl Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Alanında yürütülmüştür. Denemede bitkisel materyal olarak Aktaş ve Güneş çeşitleri kullanılmış ve tesadüf blokları faktöriyel deneme desenine göre dört tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırmada, karabuğday çeşitlerinde dört farklı ekim zamanı (25 Nisan, 5 Mayıs, 15 Mayıs ve 25 Mayıs) olacak şekilde ekim yapılmıştır. İncelenen özellikler arasında; yeşil ot verimi, kuru ot verimi, ham protein oranı, ham protein verimi, Asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF), Nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF), Sindirilebilir Kuru Madde (SKM), Kuru Madde Tüketimi (KMT) ve Nispi Yem Değeri (NYD) değerlerinin $p \leq 0,01$ düzeyinde çok önemli olduğu gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarda; yeşil ot veriminin $269,75-410,00 \text{ kg da}^{-1}$, kuru ot veriminin $100,21-142,30 \text{ kg da}^{-1}$, ham protein oranının %8,76- 9,88, ham protein veriminin $8,90-12,70 \text{ kg da}^{-1}$, ADF oranının %40,19-42,04, NDF oranının %43,51-45,11, SKM oranının %56,15-57,59, KMT oranının %2,66-2,77 ve NYD'nin 118,84-123,12 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak; Bingöl ilinde yapılacak karabuğday ekimlerinin Nisan ayının son haftasında yapılması ve mevcut iki çeşit arasında da Güneş çeşidinin tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Effects of Sowing Time on Herbage Yield and Quality in Buckwheat Varieties under Bingöl Conditions

Keywords

Buckwheat,
Bingöl,
Sowing time,
Yield

Abstract: This study was carried out in order to determine the effect of different sowing times on herbage yield and quality in buckwheat varieties under Bingol conditions in Bingol University Agricultural Application and Research Field in 2018. In the experiment, Aktas and Gunes varieties were used as plant materials. The study was carried out in four replications according to randomized block factorial design. In this study, four different sowing times (25 April, 5 May, 15 May and 25 May) were applied to the buckwheat cultivars. In this study, green herbage yield, hay yield, crude protein content, crude protein yield, Acid Detergent Fiber (ADF), Nötral Detergent Fiber (NDF), Dry Digestibility Matter (DDM), Dry Matter Intake (DMI) and Relative Feed Value (RFV) values ($p \leq 0.01$) were found to be very important. In the results, we were determined $269.75-410.00 \text{ kg da}^{-1}$ of the green herbage yield, $100.21-142.30 \text{ kg da}^{-1}$ of the hay yield, 8.76-9.88% of the crude protein content, $8.90-12.70 \text{ kg da}^{-1}$ of the crude protein yield, 40.19-42.04% of the ADF ratio, 43.51-45.11% of the NDF ratio, 56.15-57.59% of DDM ratio, 2.66-2.77% of DMI ratio and 118.84-123.12 of the RFV. As a result; it has been concluded that buckwheat sowing in Bingol should be done in the last week of April and the Gunes cultivar should be preferred among the two varieties.

1. GİRİŞ

Orta Asya kökenli olan karabuğday bitkisi, geçmişçi çok eskilere dayanmaktadır. İlk olarak Çin, Kazakistan ve

Japonya'da yetiştirilen bu bitki daha sonra Rusya, Ukrayna, ABD ve Avrupa'ya kadar ilerlemiştir. Doğu ve batıya yayılan karabuğday bitkisi soğuk iklim bölgelere kadar aksetmiştir. Ülkemize 2000'li yıllarda giren

karabuğday bitkisi, Ar-ge üretim çalışmalarında kullanılmıştır [1,2].

Asya kökenli olan karabuğday, tane ve kullanım alanları bakımından tahıl benzeri (pseudocereal) olarak nitelendirilen bir bitkidir [3]. Tahıllar ile hiçbir akrabalığı bulunmayan, tek yıllık bitki olan karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) *Polyganeaceae* familyasına aittir [4,5].

Karabuğdayın; Gluten içermeyen taneleri nedeniyle çölyak hastalığının tedavisinde önemli bir yeri vardır. Kümes hayvanlarının beslenmesinde taneler yem olarak kullanılırken, sığır beslenmesinde ise yeşil ve kuru ot olarak tüketilmektedir [6,7]. Türkiye’de, yılda iki defa olmak üzere Nisan ve Temmuz aylarında ekimi yapılan sıcak iklim bitkisidir. Kısa vejetasyon süresine sahip olan karabuğday bitkisi, yazları kısa süren soğuk iklim kuşaklarında yetişebilmektedir [8].

Karabuğdayda makineli ve serpmeye olmak üzere iki farklı ekim şekli uygulanırken, ekim derinliği 2-3 cm arasında tutulmalıdır. Makineli ekimde toprak yapısı, iklim özellikleri ve çeşit özelliklerine göre değişmek üzere 3,5-8 kg da⁻¹ arasında tohum kullanılmaktadır. Mibzerle ekimde sıra arası mesafenin 15-20 cm arasında olması tavsiye edilmiştir. Ekimden sonra yaklaşık 85-90 gün sonra hasat olgunluğuna gelen ve bitkide tanelerinin %75’i kahverengiye dönüştüğü zaman biçerdöverle hasat edilebilir [9].

Uygun ekim zamanı belirlemek tüm bitkilerde yüksek verim ve kaliteyi bulmak açısından çok önemli bir etkidir. Karabuğday bitkisi, dünyada yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan ancak ülkemizde denemeler şeklinde üretimi yapılan yeni tanınan bir bitkidir. Ekim zamanı; bölgelere, iklim faktörlerine, toprak yapısına, çeşidine göre değişiklik gösterir.

Bu çalışma, Bingöl ekolojik koşullarında karabuğday bitkisi için uygun ekim zamanını tespit etmek amacıyla yürütülmüştür.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından tescillenen Aktaş ve Güneş karabuğday çeşitleri kullanılmıştır. Araştırma; 2018 yılında Bingöl Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Alanında tesadüf blokları faktöriyel deneme desenine göre 4 tekrerrülü olarak kurulmuştur.

Bingöl ili kışları kar yağışlı, sonbahar ve ilkbahar aylarında bol yağış alan, yazları ise sıcak ve kurak karasal bir iklime sahiptir. 2018 yılı yetiştirme döneminde ortalama sıcaklığın (20.1 °C) uzun yıllar ortalamasının üstünde (17.4 °C), nispi nem (%45.3) ve toplam yağış (353.6 mm) miktarının ise uzun yıllar

ortalamasının altında (%48.3 ve 374.1 mm) kaldığı tespit edilmiştir.

Ekim işlemi yapılmadan önce deneme alanından alınan toprak numunesi Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümünün Toprak Analiz Laboratuvarında analiz edilmiştir. Analiz sonucunda; deneme alanının tınlı toprak yapısına sahip, organik madde yönünden fakir, tuzluluk miktarının az ve pH değerinin ise hafif asidik seviyede olduğu belirlenmiştir. Potasyum ve kireç oranı düşük olan deneme alanının, fosfor bakımından yeterli seviyede olduğu saptanmıştır.

Deneme alanı, sonbahar ayında yapılan derin sürümden sonra ilkbahar ayında kültivatör ve tapan çekilerek hazırlanmıştır. Parsel alanı 5 m uzunluğunda, sıra arası mesafenin ise 25 cm olacak şekilde ve parseller arasında bir sıra boş kalmak şartıyla toplam 5 sıra olacak şekilde el markörü kullanarak sıralar oluşturulmuştur.

Denemede, dekar başına 8 kg da⁻¹ tohumluk kullanılarak dört farklı zamanda (25 Nisan, 5 Mayıs, 15 Mayıs ve 25 Mayıs) ekim yapılmıştır. Ekim ile birlikte deneme alanına dekar başına 10 kg da⁻¹ gelecek şekilde DAP gübresi kullanılmıştır.

Ekimin ilk zamanlarında yağmur suyuyla beslenen karabuğday bitkisi, yağmurların kesilmesinden sonra ilk sulama Haziran ayında yapılmıştır. Karabuğday bitkisinin tane dolum aşamasına kadar olan su ihtiyacı yağmurlama sulama ile karşılanmıştır. Bitkilerin gelişmesini engelleyip havasına ve suyuna ortak olan yabancı ot kontrolünü ve toprağın havalanmasını sağlamak amacıyla çapa yapılmıştır.

Denemenin hasadı orak yardımıyla yapılmıştır. Araştırmada yeşil ot, kuru ot ve ham protein verimleri Türk ve ark. [10]’na göre, ham protein oranı AOAC [11]’a göre, ADF ve NDF oranları Van Soest ve ark. [12]’na göre, SKM ve KMT oranları ile NYD ise Morrison [13]’a göre yapılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere SAS istatistik paket programı yardımıyla varyans analizi uygulanmıştır. Varyans analizi sonucunda istatistiki açıdan önemli çıkan etkenlerin ortalamaları LSD testi ile mukayese edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Yeşil Ot ve Kuru Ot Verimleri (kg/da)

Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinde ekim zamanı ve çeşit açısından hem yeşil ot veriminin hem de kuru ot veriminin istatistiki olarak önemli olduğu, çeşit x ekim zamanı etkileşimini açısından kuru ot veriminin istatistiki olarak önemli kuru ot veriminin ise önemsiz olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinin yeşil ot ve kuru ot verimlerine ait ortalama değerler

Ekim Zamanları	Yeşil Ot Verimi (kg da ⁻¹)			Kuru Ot Verimi (kg da ⁻¹)		
	Aktaş	Güneş	Ortalama	Aktaş	Güneş	Ortalama
1. Ekim Zamanı	404,00	416,00	410,00 A**	144,70 b**	130,28 b	137,49 AB**
2. Ekim Zamanı	368,15	381,30	374,72 B	159,08 a	93,12 d	126,10 B
3. Ekim Zamanı	292,80	310,10	301,45 C	141,92 b	142,68 b	142,30 A
4. Ekim Zamanı	259,25	280,25	269,75 D	87,58 d	112,85 c	100,21 C
Ortalama	331,05 B*	346,91 A		133,32 A**	119,73 B	

Farklı harfle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (**p≤0,01 ve *p≤0,05).

Tablo 1'deki veriler incelendiğinde, ekim zamanı bakımından 410,00 kg da⁻¹ ile en yüksek yeşil ot verimi 1. ekim zamanından alınırken, 269,75 kg da⁻¹ ile en düşük yeşil ot verimi 4. ekim zamanından alınmıştır. Çeşitler açısından baktığımızda Güneş çeşidinin (346,91 kg da⁻¹), Aktaş çeşidinden (331,05 kg da⁻¹) daha yüksek yeşil ot verimine sahip olduğu tespit edilmiştir. Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda; Isparta koşullarında 2739,33 ve 2760,31 kg da⁻¹ [14], Karaman koşullarında 374,43-976,38 kg da⁻¹ [15], Yozgat koşullarında 0,58-17,69 t ha⁻¹ [16] ve Konya koşullarında 1516,66-3100,00 kg da⁻¹ [17] olarak elde edilen yeşil ot verimleri, çalışma sonucundan alınan değerlerden yüksek olduğu saptanmıştır. Tabloya bakıldığında, ekim zamanı açısından 142,30 kg da⁻¹ ile en yüksek kuru ot verimi 3. ekim zamanında izlenirken, bunu istatistiksel açıdan aynı grupta yer alan 1. ekim zamanı (137,49 kg da⁻¹) takip etmiştir. En düşük kuru ot verimi 100,21 kg da⁻¹ ile 4. ekim zamanında izlenmiştir. Çeşitler açısından incelendiğinde 133,32 kg da⁻¹ ile Aktaş çeşidinin, 119,73 kg da⁻¹ ile Güneş çeşidinden daha yüksek kuru ot verimine sahip olduğu belirlenmiştir. Çeşit x ekim zamanı etkisi bakımından 159,08 kg da⁻¹ ile en yüksek kuru ot verimi Aktaş çeşidinin 2. ekim zamanından elde edilmiştir. En düşük kuru ot verimi ise 87,58 kg da⁻¹ ile Aktaş çeşidinin 4. ekim zamanından elde edilirken, bunu 93,12 kg da⁻¹ ile Güneş çeşidinin 2. ekim zamanı takip etmiştir. Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda kuru ot veriminden elde edilen değerler; Isparta koşullarında 766,13-853,67 kg da⁻¹ [14], Yozgat koşullarında 0,14-4,42 t ha⁻¹ [16] ve Konya koşullarında 481,26-1109,40 kg da⁻¹ [17] olarak tespit edilmiştir. Yeşil ot ve kuru ot verimlerine ait bulduğumuz veriler ile araştırmacıların elde ettikleri değerler arasındaki farklılık, iklim faktörü, çeşit, toprak yapısı ve farklı hasat zamanlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 2. Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinin ham protein oranı ve verimine ait ortalama değerler

Ekim Zamanları	Ham Protein Oranı (%)			Ham Protein Verimi (kg da ⁻¹)		
	Aktaş	Güneş	Ortalama	Aktaş	Güneş	Ortalama
1. Ekim Zamanı	8,72 c**	9,12 bc	8,93 B**	12,61 bc**	11,89 bc	12,25 A**
2. Ekim Zamanı	10,05 a	9,70 ab	9,88 A	16,00 a	8,98 d	12,49 A
3. Ekim Zamanı	8,90 c	8,95 c	8,92 B	12,62 bc	12,78 b	12,70 A
4. Ekim Zamanı	7,75 d	9,78 ab	8,76 B	6,78 e	11,02 c	8,90 B
Ortalama	8,86 B*	9,39 A		12,00 A*	11,17 B	

Farklı harfle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (**p≤0,01 ve *p≤0,05).

Tabloya baktığımızda, ekim zamanı açısından en yüksek ham protein verimi 12,70 kg da⁻¹ ile 3. ekim zamanında izlenirken, bunu istatistiki olarak aynı grupta yer alan (12,49 kg da⁻¹) 2. ekim zamanı ve (12,25 kg da⁻¹) 1. ekim zamanı izlemiştir. En düşük ham protein verimi 8,90 kg da⁻¹ ile 4. ekim zamanından elde edilmiştir.

3.2. Ham Protein Oranı (%) ve Ham Protein Verimi (kg/da)

Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinde ekim zamanı, çeşit ve çeşit x ekim zamanı etkisi bakımından ham protein oranının hem de ham protein veriminin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Tablo 2'deki değerler incelendiğinde, ekim zamanı açısından en yüksek ham protein oranı %9,88 ile 2. ekim zamanında elde edilmiştir. En düşük ham protein oranı %8,76 ile 4. ekim zamanında izlenirken, bunu (%8,92) 3. ekim zamanı ve (%8,93) ile 1. ekim zamanı takip etmiştir. Çeşitlere baktığımızda ise %9,39 ile Güneş çeşidinin, %8,86 ile Aktaş çeşidinden daha yüksek ham protein oranına sahip olduğu görülmüştür. Çeşit x ekim zamanı etkisi bakımından en yüksek ham protein oranı %10,05 ile Aktaş çeşidinin 2. ekim zamanında bulunurken, bunu istatistiki açıdan aynı grup içinde yer alan (%9,78) Güneş çeşidinin 4. ekim zamanı ve (%9,70) Güneş çeşidinin 2. ekim zamanı izlemiştir. En düşük ham protein oranı %7,75 ile Aktaş çeşidinin 4. ekim zamanında tespit edilmiştir. Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda; Kütahya koşullarında %8,11-9,48 [18] ham protein oranından elde edilen veriler, çalışma sonucundan alınan değerler ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Çanakkale koşullarında %9,28-21,81 [19], Isparta ekolojik koşullarında %11,37-12,44 [20], Samsun koşullarında %10,58-12,16 [21], Yozgat koşullarında %10,97-15,81 [16], Konya koşullarında %13,56-21,08 [17] ve Isparta koşullarında %11,40-11,58 [22] olarak bulunmuştur. Elde edilen bu bulgular, çalışma sonucundan alınan verilerden yüksek olduğu belirtilmiştir.

6,78 kg da⁻¹ ile Aktaş çeşidinin 4. ekim zamanında tespit edilmiştir.

Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda; Konya koşullarında 68,93-164,18 kg da⁻¹ [17] ham protein veriminden elde edilen bulgular, çalışma sonucundan alınan verilerden yüksek olduğu belirtilmiştir.

Ham protein verimi; ham protein oranı ile kuru ot veriminin çarpılması sonucunda bulunduğundan, farklı ekolojik koşullarda elde edilen kuru ot verimindeki farklılık ham protein veriminde değişiklik göstermesine sebebiyet vermektedir.

3.3. ADF ve NDF Oranları (%)

Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinde ekim zamanı, çeşit ve çeşit x ekim zamanı etkileşimini açısından hem ADF oranının hem de NDF oranının istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Tablo 3'deki değerler incelendiğinde, ekim zamanı açısından en yüksek ADF oranı %42,04 ile 3. ekim zamanında görülürken, bunu istatistiksel olarak aynı grupta yer alan (%41,36) ile 4. ekim zamanı takip etmiştir. En düşük ADF oranı ise %40,19 ile 2. ekim zamanından elde edilmiştir. Çeşitler açısından değerlendirildiğinde, %41,70 ile Aktaş çeşidinin, Güneş çeşidinden (%40,36) daha yüksek ADF oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Çeşit x ekim zamanı etkileşimini bakımından en yüksek ADF oranı %42,85 ile Aktaş çeşidinin 1. ekim zamanında görülürken, bunu istatistiki olarak aynı grupta yer alan Güneş çeşidinin 3. ekim zamanı (%42,20), Aktaş çeşidinin 4. ekim zamanı (%42,02) ve 3. ekim zamanı (%41,88) takip etmiştir. En düşük ADF oranı %38,22 ile Güneş çeşidinin 1. ekim zamanında tespit edilmiştir. Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda; Yozgat koşullarında %33,12-33,51 [16], Konya koşullarında %25,94-38,11 [17] olarak elde edilen ADF oranları, çalışma sonucundan alınan verilerden düşük olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3. Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinin ADF ve NDF oranlarına ait ortalama değerler

Ekim Zamanları	ADF Oranı (%)			NDF Oranı (%)		
	Aktaş	Güneş	Ortalama	Aktaş	Güneş	Ortalama
1. Ekim Zamanı	42,85 a**	38,22 d	40,54 BC**	45,88 a**	41,15 d	43,51 B**
2. Ekim Zamanı	40,05 c	40,32 c	40,19 C	44,20 b	46,02 a	45,11 A
3. Ekim Zamanı	41,88 ab	42,20 a	42,04 A	45,65 a	41,80 d	43,72 B
4. Ekim Zamanı	42,02 a	40,70 bc	41,36 AB	45,65 a	43,05 c	44,35 AB
Ortalama	41,70 A**	40,36 B		45,34 A**	43,01 B	

Farklı harfle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (**p<0,01 ve *p<0,05).

Tabloya bakıldığında, ekim zamanı açısından en yüksek NDF oranı %45,11 ile 2. ekim zamanında izlenirken, bunu istatistiki olarak aynı grupta yer alan %44,35 ile 4. ekim zamanı takip etmiştir. En düşük NDF oranı %43,51 ile 1. ekim zamanından elde edilirken, bunu (%43,72) 3. ekim takip etmiştir. Çeşitler açısından incelendiğinde, %45,34 ile Aktaş çeşidinin, %43,01 Güneş çeşidinden daha yüksek NDF oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Çeşit x ekim zamanı etkileşimini bakımından en yüksek NDF oranı %46,02 ile Güneş çeşidinin 2. ekim zamanında görülürken, bunu istatistiksel açıdan aynı grupta yer alan %45,88 Aktaş çeşidinin 1. ekim zamanı, %45,65 ile Aktaş çeşidinin 3. ve 4. ekim zamanları takip etmiştir. En düşük NDF oranı %41,15 ile Güneş çeşidinin 1. ekim zamanında izlenirken, bunu %41,80 ile yine Güneş çeşidinin 3. ekim zamanı takip etmiştir.

Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda; Yozgat koşullarında %30,45-43,78 [17] NDF oranından elde edilen bu bulgular, çalışma sonucundan aldığımız verilerden düşük olduğu tespit edilmiştir. Yozgat koşullarında %42,20-52,03 [16] olarak elde edilen NDF oranları, çalışma sonucundan alınan verilerden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın karabuğdaydaki farklı hasat zamanlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.4. SKM ve KMT Oranları (%)

Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinde ekim zamanı, çeşit ve çeşit x ekim zamanı etkileşimini açısından hem SKM oranının hem de KMT oranının istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Tablo 4. Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinin SKM ve KMT oranlarına ait ortalama değerler

Ekim Zamanları	Sindirilebilir Kuru Madde Oranı (%)			Kuru Madde Tüketimi Oranı (%)		
	Aktaş	Güneş	Ortalama	Aktaş	Güneş	Ortalama
1. Ekim Zamanı	55,52 d**	59,12 a	57,32 AB**	2,62d**	2,92 a	2,77 A**
2. Ekim Zamanı	57,70 b	57,49 b	57,59 A	2,72 c	2,61 d	2,66 C
3. Ekim Zamanı	56,28 cd	56,02 d	56,15 C	2,63 d	2,87 a	2,75 AB
4. Ekim Zamanı	56,16 d	57,20 bc	56,68 BC	2,63 d	2,79 b	2,71 BC
Ortalama	56,42 B**	57,46 A		2,65 B**	2,80 A	

Farklı harfle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (**p<0,01 ve *p<0,05).

Tablo 4'te görüldüğü gibi ekim zamanı açısından en yüksek SKM oranı %57,59 ile 2. ekim zamanından elde edilirken, bunu istatistiki olarak aynı grupta yer alan (%57,32) 1. ekim zamanı takip etmiştir. En düşük SKM oranı %56,15 ile 3. ekim zamanından elde edilmiştir. Çeşitler açısından değerlendirildiğinde %57,46 Güneş çeşidinin, %56,42 ile Aktaş çeşidinden daha yüksek

SKM oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Çeşit x ekim zamanı etkileşimini bakımından en yüksek SKM oranı %59,12 ile Güneş çeşidinin 1. ekim zamanında tespit edilmiştir. En düşük SKM oranı % 55,52 Aktaş çeşidinin 1. ekim zamanında bulunurken, bunu %56,02 Güneş çeşidinin 3. ekim zamanı ve %56,16 ile Aktaş çeşidinin 4. ekim zamanı takip etmiştir. Karabuğdayda daha önce

yapılan çalışmalarda SKM oranından elde edilen veriler; Konya koşullarında %59,20-68,68 [17] olarak elde edilen bu bulgular, çalışma sonucundan alınan verilerden yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tabloya bakıldığında, ekim zamanı açısından incelendiğinde en yüksek KMT oranı %2,77 ile 1. ekim zamanında görülürken, bunu istatistiksel bakımından aynı grupta yer alan 3. ekim zamanı (%2,75) takip etmiştir. En düşük KMT oranı %2,66 ile 2. ekim zamanından elde edilmiştir. Çeşitler bakımından incelendiğinde %2.80 ile Güneş çeşidinin, %2,65 Aktaş çeşidinden daha yüksek KMT oranına sahip olduğu görülmektedir. Çeşit x ekim zamanı interaksyonunu bakımından en yüksek KMT oranı %2,92 ile Güneş çeşidinin 1. ekim zamanında gözlenirken, bunu istatistiki olarak aynı grupta yer alan %2,87 Güneş çeşidinin 3. ekim zamanı takip etmiştir. En düşük KMT oranı %2,61 ile Güneş çeşidinin 2. ekim zamanından elde edilirken, bunu %2,62 Aktaş çeşidinin 1. ekim zamanı, %2,63 ile 3. ve 4. ekim zamanı takip etmiştir.

3.5. NYD (Nispi Yem Değeri)

Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinde ekim zamanı, çeşit ve çeşit x ekim zamanı interaksyonu açısından nispi yem değerinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Tablo 5'deki değerler incelendiğinde, en yüksek NYD 123,12 ile 1. ekim zamanında tespit edilmiştir. En düşük NYD ise 118,84 ile 2. ekim zamanında izlenirken, bunu 4. ekim zamanı (119,04) ve 3. ekim zamanı (119,72) takip etmiştir. Çeşitler bakımından incelendiğinde 124,56 ile Güneş çeşidi, 115,80 ile Aktaş çeşidinden daha yüksek NYD'ne sahip olduğu görülmüştür.

Çeşit x ekim zamanı interaksyonu bakımından en yüksek NYD değeri 133,65 ile Güneş çeşidinin 1. ekim zamanında izlenirken, en düşük NYD 112,60 ile Aktaş çeşidinin 1. ekim zamanında gözlenmiştir. Karabuğdayda daha önce yapılan çalışmalarda; Konya koşullarında 125,80-209,78 [17] olarak elde edilen nispi yem değeri, çalışma sonucundan alınan verilerden yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 5. Farklı zamanlarda ekilen karabuğday çeşitlerinin nispi yem değerine ait ortalama değerler

Ekim Zamanları	NYD (Nispi Yem Değeri)		
	Aktaş	Güneş	Ortalama
1. Ekim Zamanı	112,60 e**	133,65 a	123,12 A**
2. Ekim Zamanı	121,48 c	116,20 d	118,84 B
3. Ekim Zamanı	114,68 de	124,78 b	119,72 B
4. Ekim Zamanı	114,45 de	123,62 bc	119,04 B
Ortalama	115,80 B*	124,56 A	

Farklı harfle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (**p≤0,01 ve *p≤0,05).

4. SONUÇ

Bu çalışma, Bingöl koşullarında karabuğday çeşitlerinde farklı ekim zamanlarının ot verimi ve kalitesine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada; yeşil ot ve kuru ot verimleri, ham protein oranı, ham protein verimi, ADF, NDF, SKM, KMT ve NYD gibi özelliklere ilişkin değerler incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçları özetlemek gerekirse; yeşil ot verimi, kuru ot verimi, ham protein verimi, sindirilebilir kuru madde, kuru madde tüketimi ve nispi yem değeri açısından birinci ekim zamanının daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Çeşitler açısından bakıldığında, yeşil ot verimi açısından Aktaş çeşidinin ön plana çıktığı, ancak geriye kalan diğer tüm parametrelerde ise Güneş çeşidinin daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla Bingöl ilinde yapılacak karabuğday ekimlerinin Nisan ayının son haftasında yapılması ve mevcut iki çeşit arasında, Güneş çeşidinin tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Bingöl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi BAP projeleri (Proje No: BAP-ZF.2018.00.013) kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Bingöl Üniversitesi BAP Koordinasyon birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Dizlek H, Özer MS, İnanç E, Gül H. Karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench) bileşimi ve gıda sanayinde kullanım olanakları. Gıda Dergisi. 2009;34(5):317-324.
- [2] Kan A. A new plant for Turkey; Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). Biological Diversity and Conservation. 2014;7(2):154-158.
- [3] Yavuz H, Yiğit A, Erenkul O. Farklı ekim sıklıklarının karabuğdayda (*Fagopyrum esculentum* Moench) verim ve bazı tane kalitesi özelliklerine etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2016;13(2):17-22.
- [4] Debnath NR, Rasul MG, Sarker MMH, Rahman MH, Paul AK. Genetic divergence in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Int. J. Sustain. Crop Prod. 2008;3(2):60-68.
- [5] Acar R. Karabuğdayın (Köşeli Buğday) tarımı. Konya Ticaret Borsası Dergisi. 2009;11(31):30-37.
- [6] Tahir I, Farooq S. Review article on buckwheat. Buckwheat Newsletter, Fagoprum. 1988;8:33-53.
- [7] Wijngaard HH, Arendt EK. Buckwheat. Cereal Chem. 2006;83(4):391-401.
- [8] Baburkova M, Valinova J, Moudry J. Influence of nitrogen fertilizer application on yield and chemical composition of buckwheat seeds. Series of Crop Sci. 1999;16:35-40.

- [9] Acar R, Güneş A, Aktaş AH. Karabuğdayla sağlıklı yaşama merhaba. Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Karabuğday Proje Bülteni. 2012;1:1-2.
- [10] Türk M, Albayrak S, Yüksel O. Effect of seeding rate on the forage yields and quality in pea cultivars of differing leaf types. Turkish Journal of Field Crops. 2011;16(2):137-141.
- [11] AOAC. Official Method of Analysis. 15th. edn. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC. USA. 1990.
- [12] Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neurtal detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 1991;74(10):3583-3597.
- [13] Morrison JA. Hay and Pasture Management, Chapter 8.Extension Educator, Crop Systems Rockford Extension Center. 2003
- [14] Kara N. Yield and mineral nutrition content of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench), the effect of harvest times. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2014;9(1):85-94.
- [15] Güzelsarı U, Kan Y. Karaman ekolojik şartlarda ikinci ürün olarak yetiştirilen karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench) argonomik ve kalite özelliklerinin araştırılması. Selçuk Tar Bil Der. 2016;3(2):200-204.
- [16] Köksal Ş. Yozgat şartlarda karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) yetiştiriciliği, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Bozok Üniversitesi, Yozgat, 2017.
- [17] Sürmen M, Kara E. Yield and quality features of buckwheat-soybean mixtures in organic agricultural conditions. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology. 2017;5(13):1732-1736.
- [18] Kaya E, Katar D. Kütahya-Altıntaş koşullarında farklı ekim normları ve zamanlarının karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench)'da verim ve bazı verim unsurları üzerine etkisi. 4. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi. 14-17 Şubat 2019/Yalova. 2019;448-465.
- [19] Akçura S. Çanakkale koşullarında karabuğdayda farklı ekim sıklığı ve sıra arası mesafesinin verim ve verim üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 2013.
- [20] Kara B, Çelebi FG, Kara N, Atar B. Karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench)'da farklı azotlu gübre formlarının etkinliği. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi. 2016;4(6):515-518.
- [21] Karafaki R. Samsun koşullarında farklı ekim zamanlarının karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench) önemli tarımsal özellikleri ile bazı kalite kriterlerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2017.
- [22] Kara N, Gürbüz G. Investigation of cultivate possibility at different sowing times under natural rainfed conditions of Isparta as spring of buckwheat. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2018;6(1):46-50.



Screening for Mutations in the Coding Regions of *PSEN1* Gene, 16-17 Exons of *APP* Gene and *APOE* Genotyping in Patients with Alzheimer's Disease

Tugce KARADUMAN^{1*}, Erdal EROGLU², Emel SAGLAR OZER¹, Beril ERDEM TUNCDEMİR¹, Hatice MERGEN¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, Hacettepe University, Ankara, Turkey

²Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, Ankara, Turkey

Tugce KARADUMAN ORCID No: 0000-0003-0728-0968

Erdal EROGLU ORCID No: ORCID-ID: 0000-0002-0412-8998

Emel SAGLAR OZER ORCID No: 0000-0002-8161-827X

Beril ERDEM TUNCDEMİR ORCID No: 0000-0002-9820-1147

Hatice MERGEN ORCID No: 0000-0002-7980-8197

*Corresponding author: tugcekaraduman@hacettepe.edu.tr

(Alınış: 02.04.2020, Kabul: 25.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Keywords

Alzheimer's disease, Polymorphism, Mutation, *PSEN1*, *APP*, *APOE*

Abstract: The aim of this study is to screen for mutations in the presenilin-1 (*PSEN1*) gene, 16-17 exons of amyloid precursor protein (*APP*) gene and determining apolipoprotein-E (*APOE*) genotype in patients with Alzheimer's disease (AD). The coding regions of *PSEN1* gene, 16-17 exons of *APP* gene were screened by using DNA sequence analysis in 30 patients with late onset of Alzheimer's disease (LOAD) diagnosed based on Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) criteria and 40 non-dementia controls. Additionally, genotype and allele frequencies of $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$ polymorphisms of *APOE* gene were determined by using PCR-RFLP methods in both groups. No mutation was found in the coding regions of *PSEN1* gene and 16-17 exons of *APP* gene. On the other hand, rs165932 (G/T) polymorphism was found in intron 8 of *PSEN1* in 26 patients. There was no significant difference in genotype and allele frequencies of intronic polymorphism between control group and patients ($p > 0.05$). The frequency of $\epsilon 3/\epsilon 4$ genotype was significantly higher in patient group ($p < 0.05$) and frequencies of $\epsilon 4$ allele were also significantly higher among the patients with LOAD ($p < 0.05$). When *PSEN1* genotype distribution and $\epsilon 4$ allele frequency were evaluated together in the patient group, no significant relation was found ($p > 0.05$). We suggested that there was a potential association between LOAD and *APOE* $\epsilon 4$ allele; however, no result could found to link the between *PSEN1* gene polymorphism and disease pathogenesis.

Alzheimer Hastalarında *PSEN1* Geni Kodlayan Bölgelerinde ve *APP* Geni 16-17. Ekzonlarında Mutasyon Taraması ve *APOE* Genotiplendirmesi

Anahtar Kelimeler

Alzheimer hastalığı, Polimorfizm, Mutasyon, *PSEN1*, *APP*, *APOE*

Öz: Bu çalışmanın amacı, Alzheimer hastalarında (AD) presenilin-1 (*PSEN1*) geninin tüm ekzonları ve amiloid precursor protein (*APP*) geni 16-17. ekzonlarında mutasyon taraması gerçekleştirmek ve hastaların apolipoprotein-E (*APOE*) genotipini belirlemektir. *PSEN1* geni tüm ekzonları ve *APP* geni 16-17.ekzonları, DSM-IV kriterlerine göre teşhis edilen 30 geç başlangıçlı Alzheimer hastası bireyde (GBAH) ve 40 demans tanısı bulunmayan kontrol bireyde DNA dizi analizi ile taranmıştır. Ek olarak, *APOE* genine ait $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları her iki grupta PZR-RFLP methodu kullanılarak belirlenmiştir. *PSEN1* geni kodlayan bölgelerinde ve *APP* geni 16-17.ekzonlarında herhangi bir mutasyona rastlanılmamıştır. Ancak 26 hastada *PSEN1* geni intron 8 bölgesinde rs165932 (G/T) polimorfizmi tespit edilmiştir. Bununla birlikte intronik polimorfizmin, genotip ve allel frekansları açısından kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 4$ genotipi hasta grubunda önemli derecede yüksek oranda iken ($p < 0.05$) $\epsilon 4$ alel frekansı GBAH olgularında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hasta grubunda *PSEN1* genotip dağılımı ve $\epsilon 4$ alel frekansı birlikte değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). Çalışmamızda, GBAH ve $\epsilon 4$ alel

frekansları arasında önemli bir ilişki olduğu belirlenirken, *PSEN1* geni rs165932 (G/T) polimorfizmi ve hastalık patogenezi arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

1. INTRODUCTION

AD has a genetic structure that complex. Firstly, a genetic defect causing autosomal-dominant AD on chromosome 21 was identified and subsequently it was displayed to be mutations in the *APP* gene [1].

Up to now more than 30 pathogenic mutations have been identified in the *APP* gene [2], various mutations or polymorphisms in this gene lead to excessive of A β proteins or affect its separating into A β 40 and A β 42 peptides. A β 42 is a major peptide playing a role in the pathogenesis of AD. Additionally, most of the genetic alterations are located in exons 16 and 17 of *APP* gene, these exons code the A β region of APP protein. Changes of sequences in these regions affect the cleavage recognition sites in APP protein structure and result in altered proteolytic processing of APP [3].

EOAD is associated with mutations in the *PSEN1* gene located on 14q24.2. The *PSEN1* gene has ten coding (exons 3-12) and three non-coding regions (1A, 1B and 2). This gene encodes a protein of 467 amino acid residues and this protein contains 9 transmembrane domains and a one large hydrophilic loop region [4]. To date, more than 230 different mutations, have been identified in the *PSEN1* gene [5]. The presence of missense mutations in *PSEN1* gene is responsible for the aggressive progression of EOAD. The role of *PSEN1* gene is not clear for the case of LOAD except the contributions to familial EOAD. Recent studies show that the biological pathway involving *PSEN1* gene, is quite important and defects in this pathway could contribute to LOAD pathogenesis.

APOE is one of the lipid transport proteins in the plasma and central nervous system. In humans, the *APOE* gene is located in the 19q13.2 region and ϵ 2, ϵ 3 and ϵ 4 are three common isoforms of APOE. According to previous studies, heterozygous individuals with *APOE* ϵ 4 allele have 2-3 fold risk of developing LOAD, whereas homozygous individuals with *APOE* ϵ 4 allele have more than 8 fold risk of this disease [6]. Additionally, it is suggested that the ϵ 2 allele has a protective effect on the developing of AD, whereas ϵ 3 allele has no effect [7].

In this study, it was aimed to screen the *PSEN1* gene, 16-17 exons of *APP* gene and to evaluate the genetic association of *APOE* gene polymorphisms and LOAD in a Turkish patient group. The possible effects of these genes were investigated on disease severity.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Patients and Control Group

30 patients with LOAD and 40 non-affected, age-matched controls in Gulhane Military Medical Academy, Department of Neurology, Ankara, Turkey participated in this study. The demographic variables of the study groups were shown in Table 1. The diagnosis of LOAD was based on the criteria of the DSM-IV. All clinical and neurological examination were performed for each participant. Given detailed family history, 6 patients had a family history of dementia.

Table 1. Demographic characteristics of control and patient group

	Control group (n=40)	Patient group (n= 30)
Age	60.68	69.3
Gender	32M/8W	13M/17W
FHD*	0	6

*FHD: Family history of dementia

Blood samples were collected according to ethical rules determined by the Hacettepe University, Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee Blood samples were collected according to ethical rules determined by the Hacettepe University, Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee (Decision number: TBK12/10-15). Genomic DNA was isolated from peripheral blood leucocytes via the phenol/chloroform protocol. The amount and purity of DNA samples were quantified and were stored at -20°C.

2.2. *PSEN1* and *APP* Sequence Analysis

All patients were subjected to sequencing for all exons of *PSEN1* gene and 16-17 exons of *APP* gene. Primers were used to amplify exons of *PSEN1* and *APP* amplification sizes were shown in Table 2. Amplification condition was 94°C for 2 min for denaturation, followed by 30 cycles a 94°C for 30 s, 64°C for 30 s, and 72°C for 30 s, and a final extension phase at 72°C for 2 min. PCR products were visualized on 1,5% agarose gel by electrophoresis. PCR products were purified with enzymatic purification (Exo-SAP) method before sequencing.

Table 2. For amplification of *PSEN1* and *APP* gene primer pairs

Primers	5'-3' sequence	Amplification size
PSENI-3F PSENI-3R	5'-TCTGCTTAATGTAATCTATGAAAGTG-3' 5'-AGATGATAAGTGAATCCAGTCTGG-3'	277 bp
PSENI-4F PSENI-4R	5'-CCAGGTCTAACCGTTACCTTGAT-3' 5'-GCCTTCAAGGTGATGATGACATG-3'	399 bp
PSENI-5F PSENI-5R	5'-TCTGTGTTGGAGGTGGTAATGTG-3' 5'-CTAGATCAGTTAAGTTACTGTGAC-3'	303 bp
PSENI-6F PSENI-6R	5'-AAGTGAGACCCTGTCTCAAAAAAG-3' 5'-CTCAGAGTAATTCATCAACAAAGTA-3'	262 bp
PSENI-7F PSENI-7R	5'-GAGCCATCACATTATTCTAAATAATG-3' 5'-AAAGAAAACACTCCAGTGGGGCA-3'	359 bp
PSENI-8F PSENI-8R	5'-TACCACCCATTACAAGTTTAGCC-3' 5'-TTACATGTGCTTCAGTCCGATAAA-3'	233 bp
PSENI-9F PSENI-9R	5'-AAGACTGGCGATTTGTGTGGAGA-3' 5'-AGTCTATGACCAAAGAAAGACGATA-3'	282 bp
PSENI-10F PSENI-10R	5'-CTGTTTCCATGTAATTTCTTAAAGG-3' 5'-AATTAGACTGTAACACTCTCAATTCA-3'	352 bp
PSENI-11F PSENI-11R	5'-ATTCATTGTGGGGTTGAGTAGGG-3' 5'-ACAGAACTGCCTTAAAGGGACTG-3'	297 bp
PSENI-12F PSENI-12R	5'-ATGTTAAAAACCAAGACTTGTGATTG-3' 5'-CCGGGAATCTTGACTTTGTTAGAT-3'	356 bp
APP-16F APP-16R	5'CTAACTCAGGCCTAGAAAGAAGT-3' 5'CCTTAATTTGATTCTAGCACAGGA-3'	364 bp
APP-17F APP-17R	5'ATCCAAATGTCCCCTGCATT+-TAAG-3' 5'GAGATACTAGCTAGTTCTTAGCAA-3'	348 bp

Sequencing of purified PCR products was performed by using the Big Dye Terminator Cycle Sequencing v3.1 kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Sequencing reaction condition was at 96°C for 10 s, 50°C for 5 s, and 60°C for 4 min, followed by 25 cycles. Then the products were purified using ethanol/sodium acetate precipitation method and electrophoresed on an ABI PRISM 310 Genetic Analyzer.

2.3. APOE Genotyping

APOE gene that consisted of polymorphic regions (codons 112 and 158) was amplified using PCR and a 295-bp fragment was obtained. The forward and reverse primers were 5'-GAA CAA CTG ACC CCG GTG GCG-3' and 5'-GGA TGG CGC TGA GGC CGC GCTC-3', respectively. PCR was carried out in a total volume of 25 µl containing 2 µl of genomic DNA, 2,5 µl of 10X PCR buffer (without Mg²⁺), 1,5 µl 25 mM of MgCl₂, 1 µl of 2.5 mM dNTP mix, 1 µl of 10 µM for each primer, 10% DMSO, 1U Taq DNA Polymerase Sigma ® (5 U µl⁻¹) and 13,5 µl sterile distilled water. PCR conditions were as follows: initial denaturation at 94°C for 4 min, denaturation at 94°C for 45 s, annealing at 62°C for 45 s, extension at 72°C for 45 s and further elongation at 72°C for 5 min, for 30 cycles. PCR products were subjected to digestion with the restriction enzyme, *HhaI*, Thermo Scientific ® (10 U µl⁻¹) at 37°C overnight and visualized on 10% polyacrylamide gel stained with ethidium bromide. According to restriction enzyme digestion results, fragment sizes of ε2/ε2 were 91 and 83 bp, ε3/ε3 were 91 bp and 48 bp, ε4/ε4 were 72

and 48 bp and these were homozygous genotypes. For heterozygous genotypes; ε2/ε3 were 91, 83 and 48 bp, ε3/ε4 were 91, 72 and 48 bp, ε2/ε4 were 91, 83, 72 and 48 bp [8]. In our study, five different *APOE* genotypes were observed (ε3/ε3, ε2/ε3, ε3/ε4, ε2/ε4 and ε4/ε4).

2.4. Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 21 (Chicago, IL, USA). Genotype and allele frequencies were presented as percentages. The comparison of allele and genotype frequencies between patients and controls was performed by chi-square (χ²) test. In patient group, the relationship between *APOE* gene ε4 allele and *PSENI* gene rs165932 genotypes were compared using χ² test. χ² test was used to compare the presence of ε4 allele between LOAD individuals with or without familial dementia history.

3. RESULTS

3.1. Sequencing Analysis of *PSENI* and *APP* Genes

As a result, we did not find any mutations in the coding regions of *PSENI* gene and 16-17 exons of *APP* gene. On the other hand, rs165932 (G/T) polymorphism was found in intron 8 of *PSENI* in 26 patients. To investigate the relationship between this polymorphism and LOAD, this region was screened by DNA sequence analysis in the control group. The distribution of genotype and allele

frequencies of rs165932 (G/T) polymorphism were shown in Appendix A.

However, there was no significant difference between control group and patients in terms of genotype and allele frequencies of rs165932 (G/T) polymorphism ($p>0.05$).

3.2. Genotyping *APOE* Alleles

The assessments were performed on 30 patients diagnosed with LOAD and 40 controls without a history of dementia. The *APOE* genotype was identified by the digested fragments obtained from *APOE* gene PCR products. The results of *APOE* genotype were shown in Figure 1.



Figure 1. PAGE results of different *APOE* genotypes. Sample 1 is a DNA ladder (100 bp). Sample numbers of 2, 4, 8, 9, 16 and 17 are type ϵ_3/ϵ_4 . Sample numbers of 5, 6, 10, 11, 12, 13 and 18 are type ϵ_3/ϵ_3 . Sample numbers of 3 and 14 are type ϵ_2/ϵ_3 . Sample 7 is type ϵ_2/ϵ_4 . Sample 15 is type ϵ_4/ϵ_4

Appendix B shows the distribution of each genotype and the allele frequencies of *APOE* gene.

When we compared the different *APOE* genotype frequencies among the patient and control group, ϵ_3/ϵ_3 genotype frequency was significantly higher in the control group while ϵ_3/ϵ_4 genotype frequency was higher in the patient group ($p<0.05$). In our study, ϵ_2/ϵ_2 homozygous genotype was not detected in both groups (Figure 2).

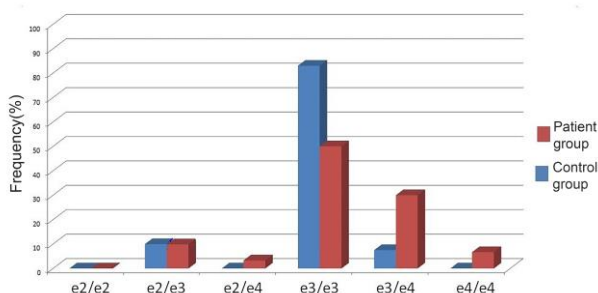


Figure 2. Distribution of *APOE* genotype frequencies in control and patient groups

The frequency of the ϵ_3 allele in the control group was significantly higher than in patient group ($p<0.05$). In

addition, the frequency of ϵ_4 allele in the patient group was significantly higher than in the control group ($p<0.05$). There was a significant difference between control and the patient groups in terms of ϵ_4 allele carrier ($p<0.05$). When we compared the presence of ϵ_4 allele in LOAD individuals with familial dementia history and without familial dementia history, we found that ϵ_4 allele frequency was significantly higher at LOAD individuals with familial dementia history ($p<0.05$).

When we consider the distribution of *PSEN1* genotype and ϵ_4 allele carrier in our patient group, we did not find any significant difference between them ($p<0.05$).

4. CONCLUSION

AD has two main subtypes, EOAD and LOAD. EOAD starts before the age of 65 and accounts for 1-5% of all cases. Both subtypes of AD may have familial and sporadic conditions [9].

The presence of missense mutations in *PSEN1* gene is responsible for the aggressive progression of EOAD. The role of *PSEN1* gene is not clear in the pathologic pathway of LOAD except the contributions to familial EOAD [10]. Recent studies show that the biological pathway including *PSEN1* gene is quite important and defects in this pathway could contribute to LOAD [11-15].

A study on RT-PCR analysis of *PSEN1* gene in individuals that historically confirmed sporadic cases and in individuals that had normal brain tissues who were at the same age with sporadic cases was conducted and no change was observed in the coding region of *PSEN1* gene. Therefore, it was claimed that the mutation frequency of *PSEN1* coding region is low in sporadic cases [16]. Similar to that study, in our study, we did not find any *PSEN1* coding region mutation in our patient group. As well as some results showed that variations of *PSEN1* have no effect on LOAD pathogenesis [17], there is also an evidence that *PSEN1* rare variants have a contribution to this pathogenesis [13,15,16]. However, many of these studies investigating the relationship between *PSEN1* and LOAD on molecular basis could not find a strong relationship as in our study. Investigation of the promoter region of *PSEN1* gene or the interactions of other variables with the regulatory regions of *PSEN1* gene, and also the determination of the relationship of disease variables are really important. Thus, these studies may highlight the function of this polymorphism. In our study, we detected polymorphism in intron 8 of the *PSEN1* gene which is associated with LOAD. Our results do not support the relationship between the 1/1 and 2/2 genotypes and the increase of the AD risk [18-20]. It is important to determine how a polymorphism affects an alternative splice process.

In addition, LOAD patients' samples were examined for mutations in exon 16 and exon 17 of *APP* gene by DNA sequence analysis. Similarly, mutation screening efforts in *APP*, which have been restricted to exons 16 and 17,

have included on LOAD families [3,13,21-24]. Some studies found variations of *APP* gene on LOAD patients [3,13,23] but the others did not find mutations or polymorphism on LOAD patients [21,22,24].

In addition, we have investigated the genetic association of *APOE* gene polymorphisms with LOAD in a group of Turkish patients and we found a significant association between *APOE* and LOAD. The frequency of $\epsilon 4$ allele was significantly higher in patients with LOAD ($p < 0.05$). There were 6 individuals with familial dementia history in our patient group. In the patients with family history of dementia, $\epsilon 4$ allele frequency was significantly higher than the patients without dementia history ($p < 0.05$). The studies have shown that the *APOE* $\epsilon 4$ allele is related to LOAD in several populations. It is suggested that the carrying of $\epsilon 4$ allele increases the risk of developing AD, whereas the carrying of $\epsilon 2$ allele decreases the risk of developing AD [25]. Taken together, in this study, there was no significant difference in both groups in terms of $\epsilon 2$ allele carrying ($p > 0.05$) (Appendix A).

We have investigated the combined effect of *PSEN1* and *APOE* polymorphisms on the risk of LOAD, which have also been not observed in other studies [1,6,26]. Also, when we have considered together *PSEN1* genotype distribution and $\epsilon 4$ allele carrying in our patient group, it was not found any significant differences between them ($p > 0.05$).

However, we can explain this observation with the small size of *APOE* $\epsilon 4$ allele carriers. In substance, previously performed studies on the genetics of AD showed that AD is a complex disorder in which both genetic and environmental factors are effective [25]. A family history of dementia has shown that the presence of dementia in pedigree increases the risk of AD. It has been reported that this risk is a relative increase and varies according to situations such as having first degree relatives, evaluation based on the whole family history, maternal and paternal transition [27,28,29].

There are many different results about *APOE* and *PSEN1* gene polymorphisms related to AD in the literature [3,4,6,7,18,19,20,25,26,30,31,32].

These different results may be explained by ethnic or regional differences and different sample sizes. In our study, while there was a strong association between AD and *APOE* $\epsilon 4$ allele, there was no relationship between *PSEN1* gene rs165932 (G/T) polymorphism and disease pathogenesis. As a conclusion, *APOE* and *PSEN1* polymorphisms or also other related gene should be studied in comprehensive trials.

Declaration of interest

This study is not subject to any conflicts of interest.

Acknowledgement

This work was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK), Grant: 2210-E and Hacettepe University Teaching Staff Training Programme (OYP) Office.

REFERENCES

- [1] St George-Hyslop PH, Tanzi RE, Polinsky RJ, Haines JL, Nee L, Watkins PC et al. The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science* 1987; 235 (4791) :885-890.
- [2] Nuo-Min L, Ke-Fu L, Yun-Jie Q, Huan-Huan Z, Hiroshi N, Hong Q. Mutations of beta-amyloid precursor protein alter the consequence of Alzheimer's disease pathogenesis. *Neural Regen Research*. 2019;14(4):658-665.
- [3] Thomas W, Divyakolu S, Sreekanth VR, Vallomkonda VRO, Vallomkonda N, Qurratulain H et al. Variations in Hotspot Region of β -amyloid Precursor Protein (APP) Gene in Various Neurological Disorders from Hyderabad, a Cosmopolitan City of South India. *Int J Clin and Exp Neurol* 2015; 3(1) :4-10.
- [4] Chandak GR, Sridevi MU, Vas CJ, Panikker DM, Singh L. Apolipoprotein E and presenilin-1 allelic variation and Alzheimer's disease in India. *Hum Biol* 2002; 74(5) :683-693.
- [5] Giau VV, Pyun JM, Suh J, Bagyinszky E, An SSA and Kim SY. A pathogenic *PSEN1* Trp165Cys mutation associated with early-onset Alzheimer's disease. *BMC Neurology*. 2019; 19:188 <https://doi.org/10.1186/s12883-019-1419-y>.
- [6] Zhou X, Miao H, Rausch WD, Long M, Luo X, Yu H et al. Association between apolipoprotein E gene polymorphism and Alzheimer's disease in Uighur and Han populations. *Psychogeriatrics* 2012;12 :83-87.
- [7] Rassas AA, Fredj SH, Khiari HM, Sahnoun S, Bibi A, Siala H et al. No association between an intronic polymorphism in the presenilin-1 gene and Alzheimer disease in a Tunisian population. *J Neuro Transm* 2013; 120(9) :1355-1358.
- [8] Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990; 31 :545-554.
- [9] Borges MK, Lopes TN, Biella MM, Siqueira A, Mauer S and Arahamian I. Early-Onset Alzheimer Disease (EOAD) With Aphasia: A Case Report. *Front Psychiatry* 2018; 9: 469. doi: 10.3389/fpsyt.2018.00469.
- [10] Strooper DB. Loss-of-function presenilin mutations in Alzheimer disease. *EMBO reports* 2007; 8(2): 141-146.
- [11] Benitez BA, Karch CM, Cai Y, Jin SC, Cooper B, Carrell D et al. The *PSEN1*, p.E318G variant increases the risk of Alzheimer's disease in *APOE*- $\epsilon 4$ carriers. *PLoS Genetics* 2013; 9(8):e1003685.
- [12] Borghi R, Piccini A, Barini E, Cirmena G, Guglielmotto M, Tamagno E et al. Upregulation of presenilin 1 in brains of sporadic, late-onset

- Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2010; 22(3) :771-775.
- [13] Cruchaga C, Haller G, Chakraverty S, Mayo K, Vallania FL, Mitra RD et al. Rare variants in APP, PSEN1 and PSEN2 increase risk for AD in late-onset Alzheimer's disease families. *PLoS One* 2012; 7(2):e31039.
- [14] Larner AJ, Ray PS, Doran M. The R269H mutation in presenilin-1 presenting as late-onset autosomal dominant Alzheimer's disease. *J Neuro Sci* 2007; 252(2) :173-176.
- [15] Wahlster L, Arimon M, Nasser-Ghodsi N, Post KL, Serrano-Pozo A, Uemura K et al. Presenilin-1 adopts pathogenic conformation in normal aging and in sporadic Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2013;125(2) :187-199.
- [16] Anwar R, Moynihan TP, Ardley H, Brindle N, Coletta PL, Cairns N et al. Molecular analysis of the presenilin1 (S182) gene in "sporadic" cases of Alzheimer's disease: identification and characterisation of unusual splice variants. *J Neurochem* 1996; 66(4) :1774-1777.
- [17] Gerrish A, Russo G, Richards A, Moskvina V, Ivanov D, Harold D, The role of variation at A β PP, PSEN1, PSEN2 and MAPT in late onset Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 2012; 28(2): 377-387.
- [18] Matsushita S, Arai H, Muramatsu T, Makimoto K, Nakagawa T, Sasaki H et al. Presenilin-1 polymorphism and Alzheimer's Disease. *Lancet* 1996; 347 :1185-1186.
- [19] Rodríguez-Manotas M, Amorín-Díaz M, Cañizares-Hernández F, Ruíz-Espejo F, Martínez-Vidal S, González-Sarmiento R et al. Association study and meta-analysis of Alzheimer's disease risk and presenilin-1 intronic polymorphism, *Brain Res* 2007;19;1170 :119-128.
- [20] Wragg M, Hutton M, Talbot C, and the Alzheimer's Disease Collaborative Group, Genetic association between intronic polymorphism in presenilin-1 gene and late-onset Alzheimer's disease, *Lancet* 1996; 347 :509-512.
- [21] Arango D, Cruts M, Torres O, Backhovens H, Serrano ML, Villareal E et al. Systematic genetic study of Alzheimer disease in Latin America: mutation frequencies of the amyloid beta precursor protein and presenilin genes in Colombia, *Am J Med Genet* 2001;103 :138-143.
- [22] Houlden H, Crawford F, Rossor M, Mullan M. Screening for the APP codon 670/671 mutations in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1993; 154 :161-162.
- [23] Kamino K, Orr HT, Payami H, Wijsman EM, Alonso ME, Pulst SM et al. Linkage and mutational analysis of familial Alzheimer disease kindreds for the APP gene region. *Am J Hum Genet* 1992; 51 :998-1014.
- [24] Tanzi ER, Vaula G, Romano DM., Mortilla M, Huang TL, Tupler RG et al. Assessment of amyloid beta-protein precursor gene mutations in a large set of familial and sporadic Alzheimer disease cases. *Am J Hum Genet* 1992; 51 :273-282.
- [25] Rassas AA, Mrabet Khiari H, Hadj Fredj S, Sahnoun S, Batti H, Zakraoui NO et al. High APOE epsilon 4 allele frequencies associated with Alzheimer disease in a Tunisian population. *Neurol Sci* 2012; 33(1): 33-37.
- [26] Yokeş MB, Apolipoprotein E Genotyping in Turkish Alzheimer Patients. *Balkan J Med Genet* 2007; 8(1) :57-63.
- [27] Cannon-Albright LA, Foster NL, Schliep K, Farnham JM, Teerlink CC, Kaddas H, et al. Relative risk for Alzheimer disease based on complete family history. *Neurology* 2019; (92): 1745-1753. doi:10.1212/WNL.0000000000007231.
- [28] Talboom JS, Håberg A De Both MW, Naymik MA, Schrauwen I, Lewis CR, et al. Family history of Alzheimer's disease alters cognition and is modified by medical and genetic factors. *eLife*. 2019; (8): e46179. doi: 10.7554/eLife.46179.
- [29] Haussmann R, Ganske S, Gruschwitz A, Werner A, Osterrath A, Lange J et al. Family History of Alzheimer's Disease and Subjective Memory Performance. *Am J Alzheimers Dis* 2018; 33(7):153331751877503 doi: 10.1177/1533317518775033.
- [30] Singleton AB, Lamb H, Leake A, McKeith IG, Perry RH, Morris CM. No association between an intronic polymorphism in the presenilin-1 gene and Alzheimer disease in a German population. *J Neuro Sci* 1999; 167(1) :34-36.
- [31] B.V.P. de-Almada, L.D. de-Almeida, D. Camporez, M.V.D. de-Moraes, R.L. Morelato, A.M.S. Perrone et al. Protective effect of the APOE-e3 allele in Alzheimer's disease. *Braz J Med and Biol Res* 2012; 45 (1) 8-12.
- [32] Hu CJ, Sung SM, Liu HC, Chang JG. Association of apolipoprotein E genotype and intronic polymorphism of the presenilin-1 gene with Alzheimer's disease in elderly Taiwan Chinese. *J Neuro Sci* 1998; 157(2) :158-161.

Appendix

Appendix A. Distribution of the *PSEN1* genotype and allele frequencies in control and patient group (p values were obtained from χ^2 test).

Appendix B. Distribution of the *APOE* genotype and allele frequencies in control and patient group (p values were obtained from χ^2 test).

Appendix A. Distribution of the *PSENI* genotype and allele frequencies in control and patient group (p values were obtained from χ^2 test).

Genotype	Control group	Patient group	p
	(N=40)(%)	(N=30)(%)	
1/1(TT)	13(32.25)	11(36.7)	0.455
1/2(TG)	21(52.5)	15(50.0)	0.514
2/2(GG)	6(15.0)	4(13.3)	0.563
Allel			
1(T)	47(58.75)(n=80)	37(61.7)(n=60)	0.432
2(G)	33(41.25)(n=80)	23(38.3)(n=60)	0.432

Appendix B. Distribution of the *APOE* genotype and allele frequencies in control and patient group (p values were obtained from χ^2 test).

Genotype	Control group	Patient group	p
	(N=40)(%)	(N=30)(%)	
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0(0.0)	0(0.0)	-
$\epsilon 2/\epsilon 3$	4(10.0)	3(7.5)	0.660
$\epsilon 2/\epsilon 4$	0(0.0)	1(3.3)	0.429
$\epsilon 3/\epsilon 3$	33(82.5)	15(50.0)	0.004
$\epsilon 3/\epsilon 4$	3(7.5)	9(30.0)	0.016
$\epsilon 4/\epsilon 4$	0(0.0)	2(6.7)	0.180
Allel			
$\epsilon 2$	4(5.0)(n=80)	4(6.7)(n=60)	0.437
$\epsilon 3$	73(91.3)(n=80)	42(70.0)(n=60)	0.001
$\epsilon 4$	3(3.7)(n=80)	14(23.3)(n=60)	0.001



Cilt Lezyon Bölütlemesi için Metasezgisel Temelli Otsu Eşikleme Yöntemi

Nurullah ŞAHİN¹, Nuh ALPASLAN^{2*}

¹ İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Bingöl, Türkiye

Nurullah ŞAHİN ORCID No: 0000-0002-3578-9959

Nuh ALPASLAN ORCID No: 0000-0000-6828-755X

*Sorumlu yazar: nuhalpaslan@gmail.com

(Alınış: 01.04.2020, Kabul: 27.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
 Melanom,
 Otsu
 Eşikleme,
 Benzetimli tavlama,
 Melodi arama

Öz: Melanom yapısal DNA hasarından kaynaklı en ölümcül cilt kanseri türlerinden olmakla beraber erken tanı konulması durumunda hayatta kalma oranı oldukça yüksektir. Melanom teşhisi, lezyon bölgesine ait dermoskopi görüntülerinin dermatolog tarafından görsel olarak incelenmesi ile konulur. Kesin tanı ise lezyon bölgesinden doku örneği alınıp patolojik inceleme sonrası ortaya çıkmaktadır. Patolojik inceleme hem çok zaman alan hem de maliyetli bir yöntemdir. Dermatologlar tarafından yapılabilecek hataları en aza indirmek ve melanomun doğru teşhisi için hekime yardımcı olmak amacıyla çok sayıda bilgisayar destekli tanı sistemi geliştirilmiştir. Lezyon bölgesinin doğru biçimde bölütlenmesi, özellik çıkarımı ve sınıflandırma performansını doğrudan etkilediği için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada öncelikle yeniden boyutlandırma, siyah çerçeve silme ve kıl silme gibi bir dizi ön işleme adımı uygulanmıştır. Daha sonra gri seviyeye dönüştürülmüş görüntünün histogramı elde edilerek lezyon bölgesini sağlıklı cilt bölgesinden ayırmak için uygun eşik değeri geleneksel Otsu, Otsu tabanlı HA, SA ve PSO yöntemleri ile elde edilmiştir. Bulunan en uygun eşik değerine göre görüntü ikili görüntüye dönüştürülerek nihai lezyon bölgesi elde edilir. Sonuç olarak, ortalama iterasyon sayılarına göre çalışma süresi hesaplandığında, PSO, HA, SA yöntemlerinin bölütleme başarımından ödün vermeden geleneksel Otsu yöntemine göre sırasıyla %40, %29 ve %28.5 daha hızlı optimal eşik değerini bulduğu gözlemlenmiştir.

Metaheuristic Based Otsu Thresholding Method for Skin Lesion Segmentation

Keywords
 Melanoma,
 Otsu
 Threshold,
 Simulated Annealing,
 Melody Search

Abstract: The melanoma is one of the most fatal type of skin cancer which is caused by structural DNA damage. But in case of early diagnosis, the survival rate is pretty high. The melanoma diagnosis is made by visual examination of the dermoscopy images of the lesion area by a dermatologist. The exact diagnosis is obtained after pathological examination by taking tissue sample from the lesion area. The pathological examination is a very time-consuming and costly method. Numerous computer-aided diagnostic systems have been developed to minimize errors that can be made by dermatologists and to assist the physicians in the correct diagnosis of melanoma. The accurate segmentation of the lesion is critical as it directly affects feature extraction and classification performance. In this study, firstly a number of preprocessing steps, such as resizing, black-frame, and hair removal, were carried out. Then, the histogram of gray-scale converted image is obtained and traditional Otsu, Otsu based HS, SA and PSO methods were applied to find the optimal threshold value to segment the lesion area from healthy skin. The final lesion area is obtained by transforming the image into a binary image according to the optimal threshold value. As a result, when the working time is calculated according to the average number of iterations, PSO, HS, SA methods have been observed to find the optimal threshold value 40%, 29% and 28.5% faster than the traditional Otsu method, without compromising the segmentation performance.

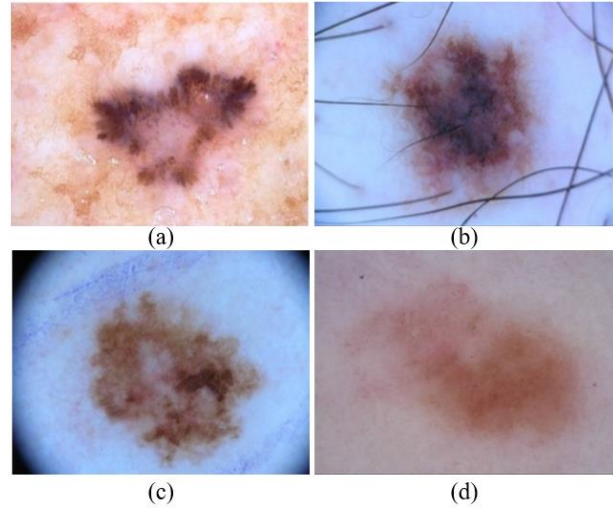
1. GİRİŞ

Kötü huylu melanom en yaygın cilt kanseri türlerinden biri olup yayılımı son yıllarda gittikçe artmaktadır. Bununla birlikte melanom erken teşhis edildiği takdirde hayatta kalma ve iyileşme oranı oldukça artmaktadır [1]. Cilt kanseri tanısında yaygın olarak dermoskopi yöntemi kullanılmaktadır. Dermoskopi, cilt lezyonlarının incelenmesinde hekime yardımcı olmak için polarize ışık kullanılan invazif olmayan bir görüntüleme yöntemidir [2]. Dermatologlar, melanoma tespiti için ABCD kuralı [3], 7 noktalı kontrol listesi [4], menzies yöntemi gibi çeşitli prosedürler kullanırlar [5]. Bu prosedürler genel olarak lezyon bölgesinin rengi, geometrisi, yapısal ve dokusal özellikleri üzerinde yoğunlaşır. Dermoskopi her ne kadar cilt lezyon sınıflandırılmasında başarılı bir yöntem olsa da doğru sınıflandırma başarısı dermatoloğun tecrübesine ve dikkatine bağlıdır. Lezyon sınıflandırmasındaki bu sorunlar ile baş edebilmek adına çok sayıda bilgisayar destekli tanı sistemleri geliştirilmiştir. Lezyon sınıflandırmasında kullanılan bilgisayar destekli tanı sistemleri temel olarak dört adımdan oluşur; 1) tüy silme ve yumuşatma, 2) bölütleme, 3) öznelik çıkarımı ve uygun özelliklerin seçimi, 4) sınıflandırma [6].

Lezyon görüntülerinde bölütleme adımı, özellik çıkarımı ve sınıflandırma adımlarının performansını doğrudan etkilediğinden kritik öneme sahiptir. Cilt lezyonlarında bölütleme adımı cilt üzerindeki kıl ve hava kabarcıkları, cilt lezyonlarının renk dağılımlarındaki farklılıklar, sınır düzensizlikleri ve düşük kontrast gibi çeşitli olumsuz koşullardan ötürü zor bir süreçtir. Şekil 1'de farklı zorluktaki cilt lezyon türleri görülmektedir. Literatürde cilt lezyon bölütlemesi için çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bunlardan bir kısmı; eşikleme [7], bölütleme için piksel komşuluk değerlerine bakarak pikselleri sınıflandıran, bölge büyütme yöntemi [8], seviye belirleme yöntemi [9], kümeleme algoritmaları [10], geodezik aktif veya bölge tabanlı kontur modelleri, istatistiksel bölge birleştirme [11] yöntemleridir. Eşikleme tabanlı yöntemler düşük kontrast değerlerinde düşük performans göstermelerine rağmen kolay uygulanabilirlikleri ve hızlı tepki vermelerinden dolayı yaygın biçimde kullanılmaktadır. [6], global eşikleme yerine görüntünün alt görüntülere bölündüğü ve alt görüntüler için ayrı ayrı eşik değerlerinin hesaplandığı adaptif bir otomatik eşikleme yöntemi önermiştir. [12], görüntünün histogramını çıkararak, histogram eşiklemesine dayalı bir otomatik eşikleme yöntemi önermiştir. [13], arıların yiyecek bulmada birbirleriyle haberleşmelerinden esinlenerek metasezgisel yöntem olan yapay arı kolonisi kullanan bir global eşikleme yöntemi önermiştir.

Bu çalışmada cilt lezyon bölütlemesi için, sınıflar arası varyans ölçütü kullanan eşikleme tabanlı bir yöntem olan Otsu yöntemi, minimizasyon probleminde dönüştürülerek, parçacık sürü optimizasyonu (particle swarm optimization, PSO), harmoni arama (harmony search, HS) ve benzetimli tavlama (simulated annealing, SA) metasezgisel yöntemleri ile gerçekleştirilir. Lezyon bölütleme hızını arttırmak için öncelikle görüntüler

yeniden boyutlandırılır. Yeniden boyutlandırılan görüntüye kıl silme algoritması uygulanır. Elde edilen görüntüyü ikili forma dönüştürmeden önce optimal eşik değerini bulmak için parçacık sürü optimizasyonu, harmoni arama, ve benzetimli tavlama ve klasik Otsu yöntemleri kullanılır ve elde edilen optimal eşik değerine göre görüntü ikili forma dönüştürülür. Elde edilen sonuçlar, uzman tarafından belirlenen kesin referans sonuçları ile karşılaştırılarak bölütleme başarımları hesaplanır. Son olarak, kullanılan metasezgisel yöntemlerin bölütleme başarımları ve bölütleme süreleri, birbirleriyle ve klasik Otsu yöntemiyle karşılaştırılır. Eşikleme metodlarının metasezgisel yaklaşımlarla bölütlenmesinin literatürde örnekleri olmakla beraber cilt lezyonları üzerinde çok fazla çalışma yoktur. Bu çalışmada, bilindiği kadarı ile cilt lezyon otsu yöntemi ile eşiklemesinde optimal eşik değerinin elde edilmesinde HA yöntemi ilk defa kullanılmıştır. Ayrıca çalışmanın diğer bir özgün yanı cilt lezyon bölütlemesinde klasik otsu ile metasezgisel yöntemlerin karşılaştırılmasının yanı sıra sürü tabanlı metasezgisel yöntemler ile sürü tabanlı olmayan metasezgisel yöntemlerin de birbirleri ile karşılaştırılmasının yapılması olup, cilt lezyonları için bu kapsamda yapılmış ilk çalışmadır. Çalışmanın kalanı şu şekilde organize edilmiştir. Bölüm 2'de Parçacık Sürü Optimizasyonu, Benzetilmiş Tavlama ve Harmoni Arama ile ilgili kısaca bilgi verilmiştir. Bölüm 3'te yöntemimizden kısaca bahsedilmiştir. Bölüm 4'te ISIC veri kümesinden alınan görüntüler kullanılarak bölütleme işleminin sonuçları paylaşılmıştır. Son olarak bölüm 5'de elde edilen sonuçlar tartışılmıştır.



Şekil 1. Farklı cilt lezyon tipleri; a) düzensiz sınırlar, b) deri üstünde kıl, c) siyah çerçeveler, d) lezyon bölge ile sağlıklı cilt arasında düşük kontrast farkı.

2. İLGİLİ ÇALIŞMALAR

2.1. Parçacık Sürü Optimizasyonu

PSO sürü halinde hareket eden bazı hayvanların yiyecek bulmak gibi temel ihtiyaçlarını giderirken sergiledikleri hareketlerin, sürüdeki diğer bireyleri etkilediğinin ve sürünün amacına daha kolay ulaştığının gözlemlenmesinden esinlenilerek Dr. Kennedy ve Dr.

Eberhart tarafından geliştirilen popülasyon temelli metasezgisel bir optimizasyon yöntemidir [14]. Sürülerde bireyler birbirleri ile iletişim halindedir. Sürüde bir birey yiyecek bulduğu zaman, sürüdeki diğer bireylerin de yiyeceğin olduğu konuma göre konumlarını ve hızlarını güncelledikleri gözlemlenmiştir. PSO bu sürü hareketini örnek almaktadır. Sürüdeki her birey bu yöntemde parçacık olarak tanımlanmaktadır. Koordinatlara rastgele serpiştirilen parçacıklar en iyi çözüm değerine ulaşmayı amaçlarken, bu çözüm değerine ulaşana kadar önceki bilgileri tutarak elde ettikleri geçici çözüm değerleri ile tuttıkları konum ve hız bilgilerini güncellemektedir [15]. Parçacık sürü optimizasyonu yöntemi şu adımlardan oluşmaktadır;

- 1) Parçacıklar rastgele hız değerleri verilerek rastgele koordinatlara serpiştirilirler ve ardından her parçacık için uygunluk değeri hesaplanır.
- 2) Her bir parçacık için yerel en iyi pozisyon (p_i) ve sürüdeki tüm parçacıklara bakılarak genel en iyi pozisyon (z_i) bulunur. Denklem (1) yerel en iyiyi, denklem (2) genel en iyiyi göstermektedir.

$$p_i(t+1) = \begin{cases} p_i(t), & \text{ise } f(x_i(t+1)) \geq f(p_i(t)) \\ x_i(t+1), & \text{ise } f(x_i(t+1)) < f(p_i(t)) \end{cases} \quad (1)$$

$$z_i(t) \in \{ p_1(t), p_2(t), \dots, p_m(t) \} = \min \{ f(p_1(t)), f(p_2(t)), \dots, f(p_m(t)) \} \quad (2)$$

- 3) Parçacıkların pozisyon ve hızları denklem (3) ve denklem (4) kullanılarak güncellenir. Denklem (3)'te w ; eylemsizlik, r_1 ve r_2 0 ile 1 aralığında seçilen rastgele sayıları, c_1 ve c_2 ivmelenme katsayılarını ifade etmektedir.

$$v_i(t+1) = wv_i(t) + c_1r_1(p_i(t) - x_i(t)) + c_2r_2(z_i(t) - x_i(t)) \quad (3)$$

$$x_i(t+1) = x_i(t) + v_i(t+1) \quad (4)$$

- 4) Verilen durdurma kriteri sağlanıncaya kadar adım 1, 2 ve 3 her iterasyonda tekrarlanır.

2.2. Benzetimli Tavlama

Benzetimli tavlama yöntemi, demirin ısıtılması anlamına gelen tavlama işleminden esinlenerek geliştirilmiş ve optimizasyon problemlerinde kullanılmaya başlanmıştır [16]. Metallerin tavlama işlemi ile optimizasyon sürecindeki olası çözüm uzayı arasında benzerlikten ilham alınarak oluşturulmuştur. ω , Ω çözüm uzayında bir başlangıç noktası olsun. $f: \Omega \rightarrow R$ çözüm uzayında tanımlı amaç fonksiyonumuz olmak üzere, SA yöntemi $T = t_0 \geq 0$ başlangıç sıcaklığında rastgele bir ω başlangıç noktası ile başlatılır. Daha sonra bir N komşuluk fonksiyonu ile ω mevcut çözüm değerinden bir $\omega' \in N(\omega)$ aday çözüm değeri üretilir. $f(\omega)$ 'den $f(\omega')$ 'ne değişim istenen yönde ise komşu çözüm mevcut çözüm olarak güncellenir. Değişim istenen

yönde olmadığı durumda ise SA bu yeni çözümü "Metropolis Kriteri" ile elde edilen olasılık değeri ile kabul etmektedir [17]. Bu aşama SA'nın temel kısmını oluşturur ve yöntemin yerel en iyiye takılıp kalmasını önlemektedir. Denklem (5) $\omega' \in N(\omega)$ 'nin mevcut çözüm olarak seçilme olasılığını belirtmektedir.

$$P(\omega') = \begin{cases} \exp[-(f(\omega') - f(\omega))/t_k] & \text{if } f(\omega') - f(\omega) \geq 0 \\ 1 & \text{if } f(\omega') - f(\omega) \leq 0 \end{cases} \quad (5)$$

Burada k sıcaklık değişim sayacını; t_k , sıcaklık değişim çizelgesini; $P(\omega')$ ω' aday çözümünün mevcut çözüm olarak seçilme olasılığını ve ω , Ω çözüm uzayında bir başlangıç noktasını, ω' ise ω 'nin komşuluğunda elde edilen aday çözümü ifade etmektedir. Yöntemin adımları genel hatlarıyla şu şekilde ifade edilebilir;

- 1) T için başlangıç değeri seçilir.
- 2) Ω çözüm uzayında rastgele ω , başlangıç noktası seçilir, $f(\omega)$ hesaplanır.
- 3) N komşuluk fonksiyonu ile ω mevcut çözüm değerinden bir $\omega' \in N(\omega)$ aday çözüm değeri üretilir.
- 4) $f(\omega') < f(\omega)$ ise hareket kabul edilir, değilse metropolis kriterine göre kabul edilme olasılığı oluşturulur.
- 5) Adım 3 ve adım 4 yeni aday çözümler için tekrarlanır.
- 6) Amaç fonksiyonu minimum yapan ω^* değeri bulunur.
- 7) T sıcaklık değeri azaltılır.
- 8) Yeni T sıcaklığı için adım 2 ile adım 6 arası tekrarlanır.
- 9) Verilen durdurma koşulu sağlandığında algoritma sonlanır.

2.3. Harmoni Arama

[18] tarafından önerilen algoritma, müzikteki notalardan esinlenerek geliştirilmiş metasezgisel bir algoritmadır. Müzisyenlerin çaldıkları notalar ile harmonik açıdan en iyi melodiye ulaşılması hedeflenmektedir. Notaların bir araya gelmesiyle oluşturulan her harmoni bir geçici çözümü temsil etmektedir. Bu şekilde en iyi çözümü verecek olan harmoni bulunmaya çalışılır. HA'nın kullandığı parametreler; Harmoni belleği kapasitesi (Harmony Memory Size, HMS), harmoni belleğini dikkate alma oranı (HMCR, Harmony Memory Consideration Rate) ve ton ayarlama oranıdır (PAR, Pitch Adjustment Rate). HA algoritması, genel olarak şu adımları içerir [19];

Adım 1: Problemin tespiti ve HA parametrelerinin oluşturulması.

Adım 2: HA için hafızanın oluşturulması.

$$\begin{bmatrix} x_1^1 & x_2^1 & \dots & x_N^1 \\ x_1^2 & x_2^2 & \dots & x_N^2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ x_1^{HMS} & x_2^{HMS} & \dots & x_N^{HMS} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} f(x^1) \\ f(x^2) \\ \dots \\ f(x^{HMS}) \end{bmatrix} \quad (6)$$

Burada x çözüm uzayındaki değerleri, f ise çözüm uzayındaki değerlerle oluşturulan her bir harmoni için amaç fonksiyonu ifade etmektedir. Algoritmada her bir çözüme karşılık gelen amaç fonksiyonu değerleri denklem (6)'ya göre hesaplanır.

Adım 3: Yeni harmoni oluşturulması. Burada HMCR parametresi kullanılarak, çözüm uzayındaki bir değer harmoni belleğinden mi seçileceğini yoksa çözüm uzayından yeni değer mi seçileceği hesaplanır; Bu seçim denklem (7)'de gösterilmiştir.

$$x'_i = \begin{cases} x'_i \in \{x_i^1, x_i^2, \dots, x_i^{HMS}\} & \text{HMCR olurluk durumu} \\ x_i \in X_i & \text{diger durum} \end{cases} \quad (7)$$

Yapılan seçimin ardından yeni harmoni vektörüne eklenen her bir değer tonlamaya ihtiyaç duymadığı belirlenir, bunun için PAR parametresi kullanılır. Denklem (8) tonlama işlemini ifade etmektedir.

$$x'_i = \begin{cases} x'_i \pm Rnd(0;1) * bw & \text{PAR} \\ x'_i & \text{diger} \end{cases} \quad (8)$$

Denklem (8)'de, bw rastgele seçilmiş bant genişliğini; $rnd(0;1)$, 0 ile 1 arasında üretilmiş rastgele sayıyı temsil etmektedir. HMCR ve PAR adımlarının ardından uygunluk değerine sahip yeni harmoni $x' = (x'_1, x'_2, \dots, x'_N)$ oluşturulmuş olur.

Adım 4: Yeni oluşturulan harmoni bellekteki en kötü harmoniden daha iyi sonuç veriyorsa, bellekteki en kötü harmoni atılarak yeni harmoni eklenir. Sonlandırma koşulu sağlanana kadar adım 3 ve adım 4 tekrarlanır.

3. ÖNERİLEN YÖNTEM

Bu bölümde optimal eşik değerini hesaplamak için önerilen algoritma ifade edilmiştir. İlk olarak, görüntü histogramından tüm fonksiyon parametrelerinin tahmin edilmesi önemlidir. Önerilen yöntemde bu problem PSO, HA ve SA optimizasyon algoritmaları tarafından en aza indirgenen bir amaç fonksiyonu optimize edilerek çözülmüştür. Sonra optimal eşik değeri hesaplanan parametrelerle belirlenmiştir.

Çalışmamızda, yeniden boyutlandırılan ve kıl silme algoritması uygulanan görüntü, gri seviye görüntü $g(x, y)$ 'ye dönüştürülür. Elde edilen $g(x, y)$ gri seviye görüntünün histogramı oluşturulur. Oluşturulan $C = [1, L]$ histogramında L adet gri seviye değeri olduğunu kabul edersek, gri seviye görüntüsündeki, 1 ile L arasındaki herhangi bir i gri seviye değerine sahip

olan piksel sayısı c_i ile gösterilebilir. Burada, görüntü histogramının alınması ek işlem gibi görünse de otsu hesaplamasında ve PSO, HA, SA ile en iyi eşik değerini bulmak için kullanılacak amaç fonksiyon hesaplanması aşamalarında işlem yükünün azaltılmasında oldukça önemlidir. Görüntü histogramı çıkarıldıktan sonra, histogram kullanılarak görüntüyü lezyon ($C_0 = [c_1 c_2 \dots c_k]$) ve lezyon olmayan ($C_1 = [c_{k+1} c_{k+2} \dots c_L]$) bölgelere en iyi şekilde ayırabilmek için, optimal k değeri hesaplanır. Bunun için varyans bilgisi kullanılmıştır. Klasik Otsu yöntemi uygulanırken, sınıflar arası varyans (σ_B^2) değerini maksimum yapan eşik değeri aranırken, çalışmamızda toplam varyans ile sınıflar arası varyans değeri arasındaki farkı ($\sigma_T^2 - \sigma_B^2$) minimum yapan değer aranmıştır. Burada $\sigma_T^2 - \sigma_B^2$ değerini amaç fonksiyon olarak kullanarak, klasik otsu yöntemimize ek bir hesaplama yükü getirmeden, klasik otsu ile maksimizasyon problemi olarak ele alınan optimum eşik bulma problemi, PSO, HO ve SA yöntemleri için minimizasyon problemine dönüştürülmüştür. Denklem (9) ve (10) klasik otsu metodu için amaç fonksiyonunu, denklem (11) ve (12) metasezgisel yöntemlerimiz için kullandığımız amaç fonksiyonunu ifade etmektedir. Denklem (13) ve (14) sırasıyla sınıflar arası varyans değerinin ve toplam varyansın hesaplanmasını göstermektedir. Otsu yönteminde toplam varyans görüntü için sabit olduğu için, ağırlıklı sınıf içi varyansı azaltmak sınıflar arası varyansı artırırken tersi durumda sınıflar arası varyansı azaltmaktadır.

3.1 Amaç Fonksiyonu ve Eşik Değeri

Otsu, gri seviye görüntüler üzerinde varyansa göre eşikleme yapabilmemizi sağlayan bir yöntemdir [20]. Bu yöntemde, görüntünün arka plan ve ön plan olmak üzere iki renk sınıfından oluştuğu varsayımı yapılır. Daha sonra tüm eşik değerleri için bu iki renk sınıfının sınıf içi varyans değeri yada sınıflar arası varyans değeri hesaplanır. Toplam varyansın değişmediği göz önünde bulundurularak, ağırlıklı sınıf içi varyans değerini minimum yapan yada sınıflar arası varyans değerini maksimum yapan değer en uygun eşik değeri olarak alınır. Çalışmada hesaplama kolaylığı için sınıflar arası varyans değeri maksimize edildi ve metasezgisel yöntemler için ise $\sigma_T^2 - \sigma_B^2$ değeri minimize edilmiştir.

$$k^* = \operatorname{argmax} \sigma_B^2(k) \quad 1 < k < L \quad (9)$$

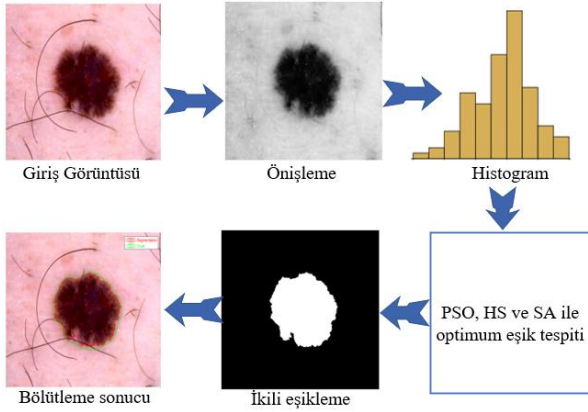
$$k^{**} = \operatorname{argmin} (\sigma_T^2 - \sigma_B^2(k)) \quad (10)$$

$$\sigma_B^2 = P(C_0)P(C_1)(\mu_0 - \mu_1)^2 \quad (11)$$

$$\sigma_T^2 = \sigma_B^2 + \sigma_W^2 \quad (12)$$

Denklem (9)'da k^* sınıflar arası varyansı maksimum yapan k eşik değerini ifade etmektedir. Denklem

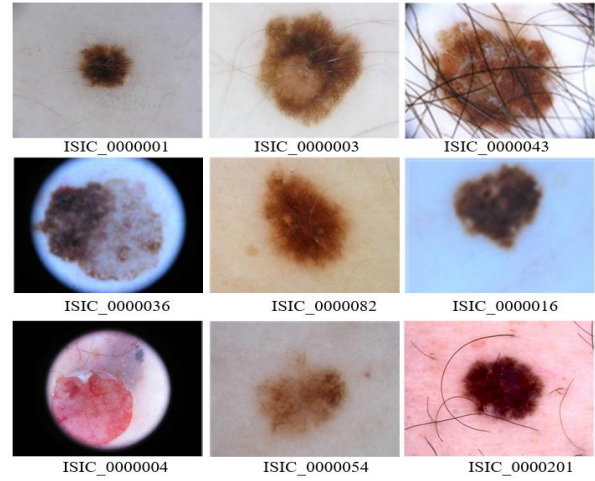
(10)'da $k^{**} \sigma_T^2 - \sigma_B^2$ değerini minimum yapan eşik değerini ifade etmektedir. Denklem (11)'de, C_0 birinci sınıfın olasılığını, C_1 ikinci sınıfın olasılığını ifade etmektedir. Denklem (12)'de σ_W^2 ağırlıklı sınıf içi varyans değerini ifade etmektedir. Önerilen yöntemle ait akış şeması Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Önerilen yöntemle ait akış şeması

4. DENEYSEL SONUÇLAR

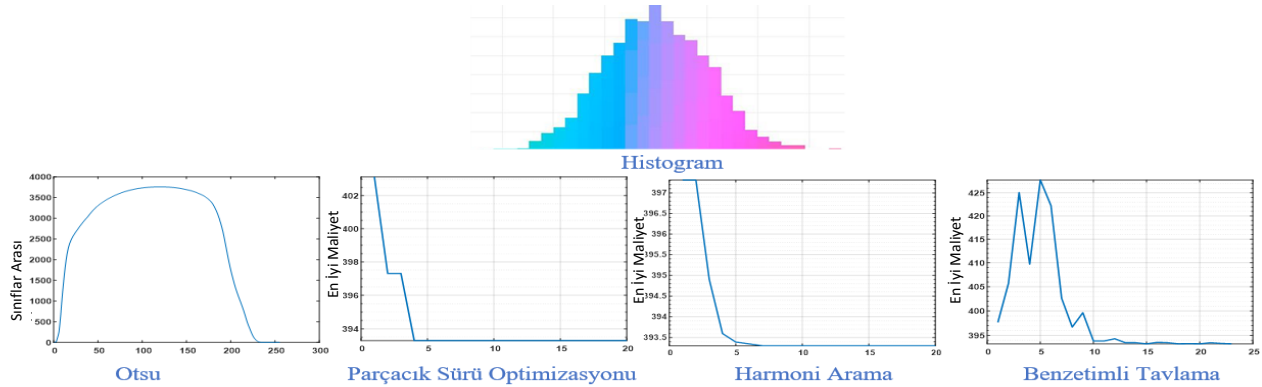
Çalışma Intel(R) Core(TM) i5-8300 CPU @ 2.3GHZ, 8GB RAM kullanan bilgisayarda ve ISBI2016 lezyon veri setinden elde edilen 10 adet görüntü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 3'te çalışmada kullanılan örnek görüntüler verilmiştir. Otsu yönteminde sınıflar arası varyansı maksimum yapan eşik değeri hesaplanarak problem maksimizasyon problemi olarak hesaplanırken; PSO, HA, SA yöntemlerinde amaç fonksiyon olarak



Şekil 3. Deneysel çalışmada kullanılan örnek görüntüler

hesaplanan toplam varyans ile hesaplanan sınıflar arası varyans değerleri farkını minimum yapan değer hesaplanarak, problem minimizasyon problemi olarak ele alınmıştır.

Şekil 4'te maksimum varyansı arayan Otsu yöntemi ve minimum amaç fonksiyon değerini arayan PSO, HA ve SA yöntemlerinin optimal eşik arama adımları gösterilmiştir. Burada, yatay eksen iterasyon sayısını, dikey eksen Otsu yöntemi için sınıflar arası varyans değerini (σ_B^2), PSO, HA, SA için ise grafikte en iyi maliyet olarak isimlendirilen, optimizasyon işlemi için amaç fonksiyonumuz olan toplam varyans ile sınıflar arası varyans değeri arasındaki fark yani $\sigma_T^2 - \sigma_B^2$ değerini ifade etmektedir.



Şekil 4. Otsu, PSO, HA, SA yöntemleri ile optimal eşik değerinin belirlenip ikili görüntü oluşturulması.

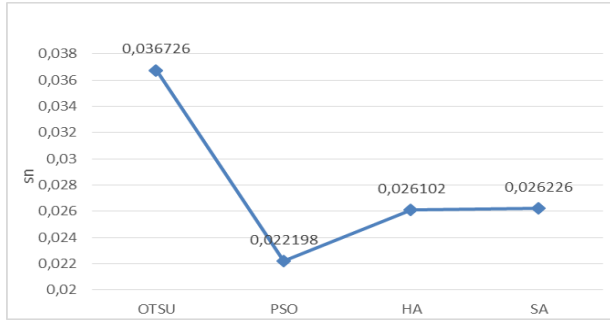
PSO algoritması için parçacık sayısı=10, maksimum iterasyon sayısı=20, birey ivmelenmesi=2 ve popülasyon ivmelenmesi=2 olarak alınmıştır. HA algoritması için maksimum iterasyon sayısı=20, HMS=10, HMCR=0.8, PAR=0.4 seçilmiştir. SA algoritmasında başlangıç sıcaklığı $T=100$, soğutma değeri $T*0.7$ ve durma sıcaklığı $(1e-2)*4$ olarak seçilip verilen parametrelere göre yöntem 23 farklı sıcaklık değeri dolayısı ile 23 iterasyon çalıştırılmıştır. Çalışmada parametre seçimi deneysel olarak ve adil karşılaştırmaya uygun olacak şekilde seçilmiştir. Başarım ölçütü olarak dice benzerliği, kosinüs benzerliği ve hesaplama süresi (computation time) göz önüne alınmıştır.

Tablo 1 sırası ile klasik Otsu eşikleme, PSO, HA, SA yöntemlerinin Dice ve Kosinüs benzerlik sonuçlarını göstermektedir. Klasik Otsu eşikleme, Otsu temelli PSO, HA ve SA yöntemlerinin hesaplama süresi saniye cinsinden Şekil 5'te sunulmuştur. Tablo 2; PSO, HA ve SA algoritmalarının optimal eşik bulunduğu en düşük, en yüksek ve ortalama iterasyon sayısını göstermektedir. Şekil 5, Tablo 2'teki ortalama iterasyon sayıları göz önüne alındığında elde edilen hesaplama sürelerini göstermektedir.

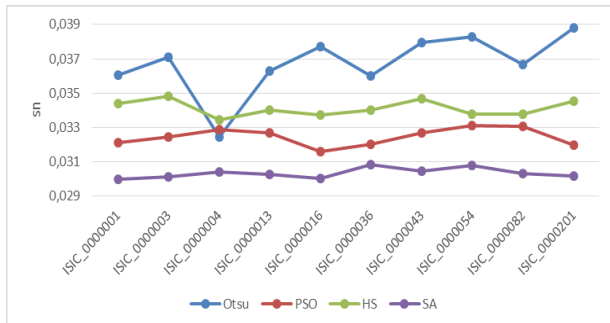
Tablo 1. ISIC veri setine ait örnek görüntüler için, geleneksel Otsu ve Otsu temelli PSO, HA, SA için dice ve kosinüs benzerliği sonuçları

	Dice-Otsu	Dice-PSO	Dice-HA	Dice-SA	Cosine-Otsu	Cosine-PSO	Cosine-HA	Cosine-SA
ISIC_0000001	98,03	98,05	98,07	98,06	98,04	98,06	98,07	98,07
ISIC_0000003	95,85	95,88	95,88	95,93	95,93	95,96	95,96	96,01
ISIC_0000004	94,99	94,99	94,99	94,99	95	95	95	95
ISIC_0000013	95	94,97	94,98	95,07	95,12	95,09	95,1	95,19
ISIC_0000016	93,6	93,63	93,62	93,63	93,79	93,82	93,81	93,82
ISIC_0000036	64,17	64,15	64,17	64,06	67,58	67,57	67,59	67,51
ISIC_0000043	92,77	92,77	92,74	92,75	92,84	92,84	92,81	92,82
ISIC_0000054	85,66	85,79	85,68	85,72	86,55	86,67	86,57	86,61
ISIC_0000082	88,06	87,97	88,17	88,17	88,69	88,61	88,79	88,79
ISIC_0000201	93,48	93,53	93,53	93,49	93,68	93,72	93,73	93,69
Average	90,161	90,173	90,183	90,187	90,722	90,734	90,743	90,751

Tablo 1'den görüldüğü üzere, kullanılan metasezgisel yöntemler en uygun eşik değerini bulmada Otsu yöntemi ile benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Ancak Şekil 5'te elde edilen zaman sonuçları incelendiğinde ise metasezgisel yöntemlerin geleneksel Otsu yöntemine göre daha kısa sürede sonuç ürettiği görülmektedir. Bununla birlikte SA, PSO ve HA yöntemlerinin geleneksel Otsu yöntemine göre sırasıyla yaklaşık %18, %12 ve %7 daha hızlı optimal eşik değerini bulduğu gözlemlenmiştir.

**Şekil 5.** Yöntemlerin en iyi eşik değerini bulmak için ortalama hesaplama süreleri

Şekil 6'da 20 iterasyon için hesaplama sürelerine bakıldığında en iyi hesaplama süresinin PSO'da en kötü hesaplama süresinin geleneksel Otsu metoduna ait olduğu gözlemlenmiştir. SA algoritmasının HO'ya göre nispeten daha iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Şekil 6'da dikkat çeken bir nokta ISIC_0000004 için Otsu için hesaplama süresinin dikkate değer biçimde düşmesidir. Ancak resmin histogramı incelendiğinde bunun resimdeki gri seviye değerlerinin az olmasından kaynaklandığı dolayısı ile bunun hesaplama süresini düşürdüğü gözlemlenmiştir.

**Şekil 6.** Örnek görüntülerle, 20 iterasyon için hesaplama süreleri**Tablo 2.** PSO, HA ve SA yöntemlerinin en iyi eşik değerini bulmak için gereken en az, en çok ve ortalama iterasyon sayıları

	PSO	HA	SA
En Az	2	2	8
En Çok	7	7	22
Ortalama	4,3	5,1	17,3

Tablo 2'deki ortalama iterasyon sayısı PSO için 4, HA için 5 ve SA için 17 olarak alınmış ve ortalama iterasyon sayılarına göre çalışma süresi hesaplanmıştır. PSO, HA, SA yöntemlerinin geleneksel Otsu yöntemine göre sırasıyla %40, %29 ve %28.5 daha hızlı optimal eşik değerini bulduğu gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Cilt lezyon bölütlemesinde eşikleme tabanlı yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada klasik eşikleme yöntemi olan Otsu yönteminin metasezgisel yöntemler ile kullanılmasının bölütleme başarımından ödün vermeden daha az hesaplama süresinde gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir. Geleneksel eşikleme yöntemleri hâlihazırda hızlı yöntemler olmakla birlikte görüntü veri kümesi gün geçtikçe artmakta olduğundan, artan hesaplama süresini azaltmak ciddi bir ihtiyaç olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmada 20 iterasyon boyunca çalıştırılan PSO, HA ve 23 iterasyon çalışan SA metodları geleneksel Otsu yöntemine göre bölütleme başarımından ödün vermeden sırası ile %12, %7, %18 daha hızlı olarak çözüme ulaşmışlardır. Burada zaman açısından en iyi çözümlere sırasıyla SA, PSO, HA ve Otsu yöntemlerinin ulaştığı görülmüştür. Ancak yöntemlerin ortalama iterasyon sayıları göz önüne alındığında bu durum değişmektedir.

PSO ve HA en iyi çözümü en iyi 2 en kötü 7 iterasyonda bulurken, SA en iyi 8 en kötü 22 adımda bulmuştur. Çalışmada PSO, HA, SA en iyi eşik değerini sırasıyla ortalama 4, 5, 17 iterasyonda bulmuştur. Ortalama iterasyon sayılarına bakıldığında PSO, HA ve SA'nın geleneksel Otsu yöntemine göre sırasıyla %40, %29, %28.5 daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bu sonuca bakıldığında sürü optimizasyonu mantığıyla çalışan PSO ve HA algoritmalarının tekil optimizasyon yapan SA yöntemine göre çözüme çok daha hızlı ulaştığı anlaşılmıştır.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, gerek global gerek adaptif eşikleme yöntemlerinde metasezgisel yöntemlerin kullanılmasının, yanıt süresini önemli ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır. Klasik otsu

yöntemi metasezgisel yöntemlere kıyasla amaç fonksiyonunu daha kısa sürede hesaplayabilmesine rağmen, en iyi amaç fonksiyon değerine ulaşabilmek için arama uzayının tamamını aramak durumunda kalmıştır. Bu durum daha karmaşık algoritmalar içeren metasezgisel yöntemlerin arama uzayında uygun değer sonuca az sayıda iterasyon ile ulaşmasını sağlamıştır. Gelecekteki çalışmalarda yaygınlaşan derin öğrenme mimarisine ortaya çıkan parametre optimizasyon problemlerinin metasezgisel yöntemlerle ele alınması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] M. Silveira *et al.*, “Comparison of segmentation methods for automatic diagnosis of dermoscopy images,” *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 3, no. 1, pp. 6573–6576, 2009.
- [2] Y. Yuan, M. Chao, and Y. C. Lo, “Automatic Skin Lesion Segmentation Using Deep Fully Convolutional Networks with Jaccard Distance,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 36, no. 9, pp. 1876–1886, 2017, doi: 10.1109/TMI.2017.2695227.
- [3] W. Stolz, A. Reimann, and A. B. Cagnetta, “ABCD rule of dermatoscopy: a new practical method for early recognition of malignant melanoma.” 1994.
- [4] G. Argenziano *et al.*, “Seven-point checklist of dermoscopy revisited,” *Br. J. Dermatol.*, vol. 164, no. 4, pp. 785–790, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.10194.x.
- [5] S. W. Menzies, *An atlas of surface microscopy of pigmented skin lesions: dermoscopy*. McGraw-Hill, 2003.
- [6] R. J. Al-Azawi, A. A. Abdulhameed, and H. M. Ahmed, “A Robustness Segmentation Approach for Skin Cancer Image Detection Based on an Adaptive Automatic Thresholding Technique,” *Am. J. Intell. Syst.*, vol. 2017, no. 4, pp. 107–112, 2017, doi: 10.5923/j.ajis.20170704.01.
- [7] R. Garnavi, M. Aldeen, M. E. Celebi, G. Varigos, and S. Finch, “Border detection in dermoscopy images using hybrid thresholding on optimized color channels,” *Comput. Med. Imaging Graph.*, vol. 35, no. 2, pp. 105–115, 2011, doi: 10.1016/j.compmedimag.2010.08.001.
- [8] B. Erkol, R. H. Moss, R. J. Stanley, W. V. Stoecker, and E. Hvatum, “Images Using Gradient Vector Flow Snakes,” *Ski. Res. Technol.*, pp. 17–26, 2005.
- [9] T. F. Chan, B. Yezriev Sandberg, and L. A. Vese, “Active contours without edges for vector-valued images,” *J. Vis. Commun. Image Represent.*, vol. 11, no. 2, pp. 130–141, 2000, doi: 10.1006/jvci.1999.0442.
- [10] A. Agarwal, A. Issac, M. K. Dutta, K. Riha, and V. Uher, “Automated skin lesion segmentation using k-Means clustering from digital dermoscopic images,” in *2017 40th International Conference on Telecommunications and Signal Processing, TSP 2017*, 2017, vol. 2017-January, pp. 743–748, doi: 10.1109/TSP.2017.8076087.
- [11] A. Wong, J. Scharcanski, and P. Fieguth, “Automatic skin lesion segmentation via iterative stochastic region merging,” *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed.*, vol. 15, no. 6, pp. 929–936, 2011, doi: 10.1109/TITB.2011.2157829.
- [12] N. K. El Abbadi and A. H. Miry, “Automatic segmentation of skin lesions using histogram thresholding,” *J. Comput. Sci.*, vol. 10, no. 4, pp. 632–639, 2014, doi: 10.3844/jcssp.2014.632.639.
- [13] M. Aljanabi, Y. E. Özok, J. Rahebi, and A. S. Abdullah, “Skin lesion segmentation method for dermoscopy images using artificial bee colony algorithm,” *Symmetry (Basel)*, vol. 10, no. 8, 2018, doi: 10.3390/sym10080347.
- [14] R. Eberhart and J. Kennedy, “New optimizer using particle swarm theory,” *Proc. Int. Symp. Micro Mach. Hum. Sci.*, pp. 39–43, 1995, doi: 10.1109/mhs.1995.494215.
- [15] H. Doğan, S. Ayas, E. Gedikli, and M. Ekinci, “Parçacık Sürü Zekası Optimizasyonu ile Mikroskopik Görüntülerin Segmentasyonunda Farklı Entropi Ölçülerinin Etkisi,” *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü Derg.*, vol. 22, no. 2, p. 703, 2017, doi: 10.19113/sdufbed.64012.
- [16] S. Kirkpatrick, C. D. Gelatt, and M. P. Vecchi, *Optimization by Simulated Annealing*. Morgan Kaufmann Publishers, Inc., 1987.
- [17] N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, and E. Teller, “Equation of state calculations by fast computing machines,” *J. Chem. Phys.*, vol. 21, no. 6, pp. 1087–1092, 1953, doi: 10.1063/1.1699114.
- [18] Z. W. Geem, “1-D Optimization Algorithms,” *Optimization*, pp. 35–54, 2001, doi: 10.1201/b18469-3.
- [19] B. Kamışlioğlu and N. Karaboğa, “Lower Order System Modelling with Harmony Search Algorithm,” pp. 576–580, 2012.
- [20] N. Otsu, “Pourazowe zniekształcenie przednich zębów stałych i związane z tym trudności lecznicze,” *Czas. Stomatol.*, vol. 26, no. 8, pp. 855–860, 1973.



BREEAM Sertifikalı Bir Eğitim Binasının Yapım Maliyetinin Geleneksel Yapım Maliyetiyle Karşılaştırılması

Tahir AKGÜL^{1*}, İlknur BEŞKEN², Orhan KARABIYIKOĞLU³

¹Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Sakarya / Türkiye

^{2,3}Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, L.E. Enstitüsü, İnşaat Mühendisliği ABD, Sakarya / Türkiye

Tahir AKGÜL ORCID No: 0000-0003-4826-9212

İlknur BEŞKEN ORCID No: 0000-0002-0500-9018

Orhan KARABIYIKOĞLU ORCID No: 0000-0001-5550-4677

*Sorumlu yazar: tahirakgul@subu.edu.tr

(Alınış: 21.03.2020, Kabul: 27.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
Sürdürülebilir yapılar,
Geleneksel yapılar,
Eğitim yapısı,
BREEAM,
Maliyet

Öz: Bu çalışmada; yeşil bina değerlendirme sistemleri içerisinde yer alan ve İngiltere menşeli olan Breeam Sertifika Değerlendirme Sistemine göre bir eğitim binasının minimum gereksinimler dikkate alınarak sürdürülebilir yeşil bina gereksinimleri projelendirilmiştir. Bu projede; sertifikasyon süreçlerinin, seçilen ekolojik malzemelerin, sürdürülebilirlik bağlamında kurulması kaçınılmaz olan sistemlerin, yapılan düzenlemeler ve seçimler sonucunda ortaya çıkan ek maliyetler belirlenmiştir. Öte yandan aynı statik projeye sahip geleneksel yapım tekniği ile yapılmış eğitim binasının yapım maliyeti ile karşılaştırılmıştır. Yapılan bu karşılaştırmalar sonucunda Breeam Sertifika Değerlendirme Sisteminde ön görülen minimum koşullarda ortaya çıkan ek maliyetin, geleneksel yapım sisteme göre yaklaşık % 10 oranında arttığı sonucuna varılmıştır.

49

Comparison of BREEAM Certified Construction Cost of a Training Building Compared to Traditional Construction Cost

Keywords
Sustainable structures,
Traditional structures,
Educational structure,
BREEAM,
Cost

Abstract: In this study; green building project has been created by considering the minimum requirements of an education building according to the Breeam Certificate Evaluation System, which is located in the green building evaluation systems and is of British origin. In this educational structure; Certification prosesse, selected ecological materials, systems that are inevitable to be established in the context of sustainability, additional costs incurred as a result of arrangements and choices have been determined. On the other hand, it was compared with the cost of the built structure with the traditional construction technique with the same statically project. As a result of these comparisons, it has been concluded that the cost incurred at the minimum conditions stipulated in the Breeam Certificate Evaluation System increased by approximately 10% compared to the cost made by the traditional system.

1. GİRİŞ

Gün geçtikçe gündelik hayatımızın her aşamasında sürdürülebilirlik kavramı ve sürdürülebilir yaşamın önemi artmakta bu nedenle yaşam alışkanlıklarımızı her alanda hızla değiştirmektedir. Günümüzde özellikle ekolojik dengenin bozulması ve küresel ısınma nedeniyle ortaya çıkan değişimlerden biri, yaşam alanlarımızın çevreye duyarlı, insan sağlığını önceleyen, sürdürülebilir olması gerekliliğidir. Yaşam alanlarımızın sürdürülebilir olması öncelikle yaşadığımız yapıların sürdürülebilir olmasına bağlıdır. Bundan dolayı birçok ülkede

sürdürülebilir yapıların projelendirilmesi ve üretimi ile ilgili farklı sertifikasyon sistemleri geliştirilmiştir.

Dünyada enerji ihtiyaç düzeyi ve önemi her geçen gün artmaktadır. Yeşil bina sertifikasyon sistemleri, yapılarda enerji kullanımının daha verimli hale getirilerek gelecek kuşaklara daha yaşanabilir bir çevre bırakmak ilkesiyle hareket etmektedir. Bu nedenle günümüzde yaşam alanlarımızı yeşil bina değerlendirme sistemlerine uygun olarak inşa etmek bir ihtiyaçtan ziyade zorunluluk haline gelmiştir. Bu nedenle hem toplumun bu konuda bilinçlendirilmesi hem de yapılan yeşil binanın örnek teşkil ederek yaygınlaşmasını

sağlamak son derece önemlidir. Böylece karbon salınımı düşük malzeme kullanımı, yenilenebilir enerji, bilinçli enerji tüketimi, yaşanabilir çevre, usulüne uygun geri dönüştürülen atıklar, insan sağlığını önceleyen yaşam alanı ile gelecek nesillere daha yaşanabilir bir dünya mirası bırakmak mümkün olacaktır [1].

Ayrıca sürdürülebilir yeşil binaların günlük hayata katkıları ve avantajları birçok akademik çalışmayla ortaya konulmuştur. Mesela Yeşil Okulun; Çevre, Sağlık ve Eğitim üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yeşil okul tasarımının öğrenci başarısını olumlu yönde etkilediği görülmüştür [2]. Yapılan bir başka çalışmada alışveriş merkezleri için yeşil bina performans ölçüm modeli önerisinde bulunulmuş sonuç olarak çevre kirliliği, iklim değişiklikleri, doğal kaynakların kullanımı gibi çevresel sorunların yanı sıra, insanlarda sürdürülebilir çevre bilincinin oluşmasına ve bu durumun yapı sektöründe de çevreyle dost, yeşil binalar inşa etmeye yönlendirdiği tespit edilmiştir [3].

Maliyet karşılaştırılması konusunda yapılan bir çalışmada Bursa ili Osmangazi ilçesi Çekirge semtinde toplam iç kullanım alanı 300 m² olan klasik ofis ile yeşil ofis bina tasarımları ve maliyet hesapları yapılmıştır. Kendi enerjisini üreten yeşil ofis ile dışarıdan enerjisini alan klasik ofisin enerji sarfiyatları yıllık bazda belirlenmiş ve ilk yatırım maliyetlerine göre amortisman süreleri hesaplanmıştır. Yeşil ofisin maliyeti klasik ofisin maliyetleri karşılaştırılmış ayrıca kurulan sistemlerle yıllık tasarruf oranları ortaya çıkarılmıştır [4].

Yapılan bir başka çalışmada bir yapının enerji ihtiyacının karşılanması için yapıya kurulan sürdürülebilir enerji sistemleri olan rüzgar ve güneş enerjisi sistemlerinin verimleri karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda yapının enerji ihtiyacının güneş enerjisinden karşılanması uygun görülmüştür. Bu sistemle üretilen yıllık enerjinin sistem maliyetinin %16' sını karşılamakta ve sistem maliyetinin 5,9 yılda kendini amorti ettiği tespit edilmiştir [5].

Öte yandan ABD menşeli LEED ve İngiltere menşeli BREEAM sertifika programlarını karşılaştırılmasının yapıldığı bir çalışmada; bu programların amaçları aynı olmasının yanı sıra hesaplama metodlarının farklı olduğu ortaya konulmuştur. Her iki sistemin de uygulamada bazı zorluklarla karşılaşıldığı ancak temel olarak sürdürülebilir yeşil bina sertifikası almanın sadece bir takım basit yöntemlerin izlenilmesiyle mümkün olacağına değinilmiştir [6].

Dünyada ilk olması bakımından büyük öneme sahip, İngiltere yeşil bina sertifika programı olan BREEAM (Building Research Establishment Environmental Assessment Method), binaların sürdürülebilirliğini değerlendiren, derecelendiren ve onaylayan bir sistemdir. Bu sistem sadece değerlendirme yapmayan, getirdiği öneriler ve grup çalışmaları ile inşaat tekniklerini değiştiren, yenilikçi fikirlere öncülük yapmaktadır. BREEAM sertifika programının temel amaçları; çevreye zarar vermeyen yapılar inşa etmek, kurumların çevre hedeflerine ulaşmalarını sağlamak,

yenilikçi çözümler için teşvik etmek, yapıları çevresel uygulamalarla kontrol altına almak, kullanıcıların yeşil bina konusundaki bilinçlerini arttırmaktır [7].

BREEAM puanlama sisteminde puanlama, daha sürdürülebilir bir yapı inşa etmek, binanın marka değerini arttırmak ve en önemlisi binanın yapımı ve tüm kullanım ömrü boyunca çevreye verdiği zararı minimize etmek adına farklı bina tipleri için farklı inovatif yaklaşımlar, mühendislik pratiklerinin geliştirilmesini amaçlamaktadır [8].

2. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışmada bir ilkokul binası projesi kullanılmıştır. Bu proje geleneksel yapım teknikleri dikkate alınarak ilgili yönetmenliklere göre tasarlanmıştır. Proje için Sakarya ili Serdivan ilçesinde imar durumu eğitim tesis alanı olarak belirlenmiş bir parsel seçilmiştir. Yapı Bodrum + 4 katlı olup yaklaşık 1800 m² temel alanı üzerine kurulmuştur. Toplam inşaat alanı 9.115 m² dir. Okulun 4000 m² civarında bahçesi bulunmaktadır. Geleneksel yapım teknolojileri ile yapılacak bina maliyetleri Çevre ve Şehircilik Bakanlığının belirlediği müteahhit kararı dahil KDV hariç birim fiyatlar kullanılmıştır.

Öte yandan ilgili eğitim binasının sürdürülebilir yeşil bina projelendirilmesinde BREEAM sertifikasyon sistemi esas alınmıştır. BREEAM sertifika sisteminde kullanılan kredi kategorileri şekil 1'de verilmiştir. Bu kategorilerin puanlama ağırlıkları; Yönetim %12, Enerji %19, Sağlık ve konfor %14, Su %6, Malzeme %12, Atık %8, Kirlilik %6, Yenilikçilik %10, Ekoloji %10, Risk %1 şeklinde belirlenmiştir [9].



Şekil 1. BREEAM sertifika sisteminde dikkate alınan temel unsurlar [10]

Ayrıca ilgili sertifikasyon sisteminde minimum şartlar aranmaktadır. Buna göre;

1. Enerji; Breeam sertifikası içerisinde Enerji Verimliliği Değerlendirmesi konu başlığı altında enerji puan hesaplama kartı bulunmaktadır. Bu puanın minimum 50 olması gerekmektedir.
2. Havalandırma; Breeam'e göre tüm yaşanabilir ve ıslak odaların asgari düzeyde havalandırma ve tahliye havalandırması bulunması gerekmektedir. Bu şartlar bina yönetmeliği kısım F, bölüm 7 de bulunmaktadır.

3. Güvenlik; Breeam'e göre mutlaka yapı içerisinde yangın ve karbon monoksit algılama ve alarm sistemi olması gerekmektedir.

4. Malzeme; Breeam'de belirtilen CN3, CN8, CN9 ve CN11 inci kısımlara göre; Yapı içerisinde kullanılan tüm malzemelerin devlet lisanslı ve yasal olarak kullanmaya uygun olması gerekmektedir. Nesli tükenmekte olan malzeme türleri özellikle kereste türleri kullanılmamalıdır. Bu durum yapının konumuna ve ilgili yönetmeliğe göre değişkenlik gösterir. Kullanılan kaynağın sürdürülebilir olduğuna dair geçerliliği olan herhangi bir belge gerekir [9].

Yeşil bina sertifikasyonu için yapılacak çalışmalar, kurulacak sistemler ve düzeylerine göre puanlama sistemi yapılmaktadır. Tüm bu puanlamalar sonucunda yapının toplam puanına göre BREEAM sertifika seviyeleri belirlenmektedir. İlgili seviyeler şekil 2 de verilmiştir. Buna göre toplam skoru 30 puan altında kalan bir yapı Breeam'e göre yeşil bina statüsünde görülmemektedir. Öte yandan yapının puanı yükseldikçe yeşil bina düzeyi artmakta yani çevre, insan, enerji ve verimlilik vb. fayda düzeyi artmaktadır.

GEÇER	★	30+
İYİ	★★	45+
ÇOK İYİ	★★★	55+
MÜKEMMEL	★★★★	70+
OLAĞANÜSTÜ	★★★★★	85+

Şekil 2. BREEAM sertifika düzeyleri [10]

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Ele alınan proje yukarıda belirtilen kategorilere göre irdelenmiş ve her başlık altında yapılan faaliyetler ve maliyetleri ortaya konmuştur. Faaliyetler belirlenirken minimum sistem ve gereksinimlerle maksimum düzeyde fayda sağlamak ve yeşil bina için gerekli minimum skora ulaşmak amaçlanmıştır. Buna göre;

3.1. Yönetim

Yönetim bölümünün amacı, ev sahiplerinin evlerini verimli ve etkin bir şekilde işletebilmelerini ve güvenli bir evde yaşayabilmelerini sağlamaktır. Breeam Sertifikasına göre Yönetim kategorisi ev kullanım kılavuzu, ekolojik özelliklerin korunması ve geliştirilmesi, güvenlik ve proje yönetimi olmak üzere farklı başlıklar altında ele alınmıştır.

3.1.1. Ev kullanım kılavuzu

Bu kılavuz, binamızda güvenli, konforlu ve ekonomik işletilen bir ortam sunmak, bina tesliminden sonra karşılaşılabilecek muhtemel soru ve sorunlara cevap vermek ve ev sahiplerine rehberlik sağlamak amacıyla hazırlanmaktadır. Breeam Sertifika programına göre Ev Kullanma Kılavuzu bölümündeki istenen koşullar sağlanmış olup buradan 3 kredi alınmıştır [11].

3.1.2. Güvenlik

İnsanların kendilerini güvende hissettiği yerel yenileme projelerini teşvik etmeyi; suç ve düzensizliğin olmadığı, yaşam kalitesinin yüksek olduğu yerlerde yaşamalarını sağlamayı amaçlamaktadır. Okul binamızda kullanılan; Dış Kapı Takımları: PAS 24: 2007 ve LPS 1175 Issue 7 Security Rating, Pencere: BS 7950: 1997 ve LPS 1175 Issue 7 Security Rating standartlarına uygunluk sağlamaktadır ve buradan 1 kredi kazanılmıştır. Ayrıca güvenlik görevlileri ve kameralar ile sağlanan güvenlik hizmeti ile 1 kredi elde edilmiştir.

3.1.3. Ekolojik özelliklerin korunması ve geliştirilmesi

Bölgenin, mevcut ekolojik özellikleri inşaat çalışmaları sırasında ve sonrasında önemli hasarlardan korumak ve ekolojik değerini arttırmayı amaçlamıştır. Bu amaçla bölgedeki ekolojik özelliklerin varlığını belirlemek için bir anket yapma taahhüdü verilmiştir. Ayrıca bölgede bulunan tüm ekolojik özelliklerin uygun şekilde korunacağını onayını alınmıştır ve böylelikle Ekolojik özelliklerin korunması ve geliştirilmesi bölümünden 1 kredi sağlamıştır.

3.1.4. Proje yönetimi

Amacı, performans beklentileri doğrultusunda tasarlanmış ve inşa edilmiş, işlevsel ve sürdürülebilir bir yenilemenin yapılmasını sağlamaktır. Proje ekibi arasında bireysel ve ortak sorumluluklar atamak için bir başlangıç toplantısı planlanmıştır. Buradan 1 kredi alınmıştır. Devir teslim sürecindeki ve sonraki bakım işlemleri sırasında havalandırma ve aydınlatma yeterliliği, enerji bilinci düzeyi, kullanım sonrası kusurların tespiti, sistemlerinin etkinliği ile ilgili sorunlar belirlenmesiyle 1 kredi de buradan elde edilmiştir.

3.2. Sağlık ve Refah

Sağlık ve Refah kategorisi, yaşayanlar için sağlıklı ve güvenli bir iç ortamı teşvik eden yenilemeleri tanıyarak yapıdaki yaşam kalitesini iyileştirmek amacıyla yapılan çalışmaları içermektedir. Bu kategoride üç ana başlıkta yapılan iyileştirme çalışmaları incelenecektir.

3.2.1. Uçucu organik bileşikler

Sağlık ve refah kategorisinin bu kısmında, uçucu organik bileşiklerin (VOC) düşük emisyonlu iç cilaların ve bağlantıların belirlenmesi yoluyla sağlıklı bir iç ortamın tanınması ve teşvik edilmesi amacıyla kullanılan tüm dekoratif boya ve verniklerin Breeam sertifika programına göre düzenlenmesi sağlanmıştır. Yapıda kullanılan standart tavan boyası ve yine standart silikonlu iç cephe boyası yerine Breeam sertifika programının istediği özelliklere sahip bir tavan ve iç cephe boyasını tercih edilmiştir. Seçilen tavan ve iç cephe boyası bünyesinde hiçbir zararlı kimyasal içermeyen, ortamın hava kalitesini iyileştiren Mas Certified Green sertifikalı boyalardır. Kullanılan bu yeni boyalar sağlıklı ve güvenli bir iç ortam sağlayarak yaşam kalitesini iyileştirmeye katkı sağladığı için yapılan bu çalışmadan Breeam sertifika programına göre 1 kredi alınmıştır.

3.2.2. Havalandırma

Temiz hava sağlamak için uygun havalandırma seviyelerinin sağlanması yoluyla sağlıklı bir iç ortamın tanınması ve teşvik edilmesi ve aşırı ısı kaybı olmadan kirleticilerin ve nem seviyelerinin birikmesi ile ilgili sorunlardan kaçınmak amacıyla yapılması gereken çalışmaları içeren bu bölümde ek bir çalışma yapılmasına gerek duyulmamıştır. Bu konuda yapı inşası sırasında; hava kalitesi standartları konusunda Türkiye’de 2872 sayılı, 9 Ağustos 1983 kabul tarihli Çevre Kanunu’na dayanılarak 02.11.1986 tarihinde Hava Kalitesinin Korunması Yönetmeliği (HKKY) [12] gereğince gerekli şartların sağlanacağı kabul edilmiştir. Ayrıca Avrupa Birliği uyum sürecinde yapılan çalışmalar neticesinde Çevre ve Orman Bakanlığı Hava Kalitesinin Korunması amacı ile bu yönetmeliği 3 farklı yönetmelik olarak düzenlemiş ve yürürlüğe koymuştur [13]. Bu yönetmeliklere uyulması yeterli olacak ve bu sayede 1 kredi alınacaktır.

3.2.3. Güvenlik

Bu bölümde yangın ve karbon monoksit (CO) maruziyetinden kaynaklanan yaşam, sağlık ve mal risklerini azaltmak amaçlanmaktadır. Binaların Yangından Korunması Hakkındaki Yönetmelik [14] kapsamında eğitim binaları inşası sırasında gerek duman detektörleri ve yağmurlama sistemi, gerek yangın merdiven ve holleri gerekli şekillerde ve şartnamelere uygun olarak projelendirilmiştir. Bu kısımdan hali hazırda projelendirme aşamasında 1 kredi alınmıştır.

3.3. Enerji

Enerji kategorisi, Breeam sertifika programına göre evin enerji verimliliğini artıracak önlemleri değerlendirmektedir. Bu kategoride yapılan iyileştirmeler beş alt başlıkta incelenmiştir.

3.3.1. Enerji verimliliği değerlendirme sonrası yenileme

Bu değerlendirme kriterindeki amaç; CO salınımını azaltarak, yenilenmiş konutların Enerji Verimliliğini yüksek düzeyde teşvik etmektir. Ülkemizde enerji verimliliği konusunda yetkili belgeler Enerji Kimlik Belgeleridir. Hazırlanan bu EKB belgesi ile yapı içerisinde bulunan insanların bilinçlendirilmesi, var olan enerji ve emisyon sınıfları hakkında bilgi sahibi olunması sağlandıktan sonra ileriki adımlarda yapının CO salınım oranını azaltarak enerji ve emisyon sınıfları hakkında geliştirme yapılmasına imkan tanımaktır. Yapının enerji verimliliğinin değerlendirilmesi ve ileriye dönük yeni adımların planlanması sonucu bu bölümden 2 kredi alınmıştır.

3.3.2. Enerji etiketli beyaz eşya

Enerji tasarruflu beyaz eşya tedariki veya satın alınmasını teşvik etmek, böylece konuttaki cihaz kullanımından kaynaklanan karbondioksit (CO₂) emisyonlarını azaltmak amaçlanarak bu bölüm için gerekli inceleme ve araştırmalar yapılmıştır. İnşa edilecek yapımız bir okul binası olduğu için yapı içerisinde klimalar hariç kullanılacak bir beyaz eşya mevcut değildir. Bu yüzden yapıda kullanılan klimalar enerji etiketli A+++ olarak seçilmiş bu sayede enerji

verimliliğinden tasarruf ve CO₂ emisyonunda da bir iyileştirme amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu enerji etiketli beyaz eşya bölümünden 2 kredi alınmıştır.

3.3.3. Aydınlatma

Okullarda elektrik tüketiminin yaklaşık %30’u aydınlatmalardan kaynaklıdır. İyi bir aydınlatma hem tasarruf sağlar hem de gerekli ışık konforunu sağlar. Bu konforun sağlanması için günümüzde az enerji tüketen ve floresan lambalara göre aynı performanslı düşük enerji ile sağlayan LED spot lamba kullanmak doğru bir seçim olacaktır. Floresan ile LED spot lambamızı maliyet açısından karşılaştırdığımızda da %100 tasarrufumuz söz konusudur. Bu uygulama ile Breeam Enerji bölümündeki aydınlatma ile istenen koşullar sağlanmış olup enerji kullanımı ve maliyeti düşürülmüştür. Bu bölümden sertifikaya göre 2 puan elde edilmiştir.

3.3.4. Enerji teşhir cihazları

Erişilebilir ekipmanın konut sakinlerine enerji tüketim verilerini göstermesini sağlamak ve böylece enerji kullanımını azaltmaya teşvik etmek amacıyla mevcut okul binasının her katına elektrik, su ve ısınma verilerini toplayarak raporlamaya yarayan bir sistem yerleştirilecektir. Zenon Analyzer ile kaydedilen bu verilerden istenildiği gibi özel raporlar oluşturulabilmekte, bu raporlar istenilen dosya formatlarında kayıt edebilmektedir [15]. Seçilen bu sistemde, kayıt edilen veriler ve/veya online veriler ile dinamik raporlama yapabilmekte ve ISO50001 uyumlu standart raporları otomatik olarak hazırlayabilmektedir. Bu özelliği TUV tarafından test edilerek sertifikalandırılmıştır. Kullanılacak olan bu sistem ile enerji tüketim bedellerini kontrol edebilmesi sağlanacak ve 2 kredi alınacaktır.

3.3.5. Döngü depolama

Yeterli ve güvenli bisiklet depolama olanakları sağlayarak yolcuları bisiklet kullanmaya teşvik etmek, böylece kısa araba yolculuğu ihtiyacını azaltmak amacıyla okul bahçesi içerisine bisiklet sürücülerinin, bisikletlerini güvenli olarak bırakabilecekleri, aydınlatması olan, motorlu taşıt trafiğinden arındırılmış ve bisikletlerin toplu olarak park edilebileceği istasyonlar ile bisiklet park yerleri ihtiyacı karşılayacak oranda yapılmıştır. Tasarım sırasında yönetmeliklere uyularak her 40 öğrenci için 8 park yeri standardına uyulmuş ve mevcut 620 öğrenci için 125 bisiklet park alanı oluşturularak bu bölümden 2 kredi alınmıştır [16].

3.4. Su

Bu çalışmadaki eğitim yapısının “Breeam Sertifikası” alabilmesi için su kullanımı ile ilgili; Su kullanımını ölçmek ve kullanımı azaltmak amaçlanmış ve bunun için hem teknolojik gelişmeler kullanılmış hem de suyun geri dönüşümlü kullanılması sağlanmıştır. Çalışmadaki kişi sayısı 620 kişi olarak belirlenmiş olup ülkemizde ki günlük kişi başı su tüketimi MMO (sıhhi tesisat tekniğinde su tüketimi hesabı) verilerine göre okullarda 180 litre olarak belirlenmiştir. Breeam sertifikasında kullanılması zorunlu olan sensörlü musluk, kademeli sifon sistemi, çim sulama sistemi ve yağmur suyu toplama sistemi kullanılmış olup bu ürünlerin teknik

şartnameleri dikkate alındığında, su sarfiyatları yukarıda bildirilen günlük kişi başı tüketimini azaltılmış olup tablo 1’de değerler verilmiştir. Çalışmada belirlenen şartlara uygun, tasarruf sağlayan yeni teknolojik malzemeler kullanılmış olup kişi başı günlük toplam su tüketimi 180 litre’ den 75 litreye düşürülmüştür. Elde edilen bu tasarruf oranı Breeam Sertifikasından ekstra olarak 3 kredi kazandırmıştır. Ayrıca projede yağmur suyu depolama sistemi kurulmuş olup saniye’ de 54,76 litre su depolama kapasitesine sahiptir. Elde edilen bu su daha sonra projede ki tuvalet bölümleri ve bahçe sulama sisteminde kullanılacak olup, ayrıca bir tasarruf sağlamış ve su kaynakları kullanımını azaltmıştır [17].

Tablo 1: Kişi Başına Günlük Toplam Su Tüketimleri [18]

	Kişi Başına Günlük Toplam Su Tüketimi (Litre)	Kurulan sistemler Sonrası Kişi Başına Günlük Toplam Su Tüketimi (Litre)
Musluk	120	30
Rezervuar	52	40
Çim Sulama Sistemi	8	5
Toplam	180	75

3.5. Malzeme

Yapı içerisinde kullanılan tüm malzemelerin devlet lisanslı ve yasal olarak kullanmaya uygun olması gerekmektedir. Bu inşaatda kullanılan tüm malzemeler belirli standartlara sahiptir. Yeşil binalarda yaşam döngüsü analizinin yapılmış malzemeler tercih edilmektedir [19]. Yasal olmayan ve inşaatı uygun olmayan hiçbir malzeme yapıda kullanılmamıştır. Projede dış duvarlarda 13,5’lik tuğla+EPS+3,5’lik tuğla kullanılmış yalıtım bu şekilde sağlanmıştır. Breeam Sertifikasına göre kullanılan malzemeler sonucunda bu kategoriden 4 kredi elde edilmiştir.

3.6. Atık

Atık kategorisi, tadilat çalışmalarından ve yapının işletilmesinden kaynaklanan atıkları azaltmayı, atıkların depolama alanından yönlendirilmesinin teşvik edilmesini amaçlayan konuları kapsamaktadır. Geri dönüştürülebilir atıklar için özel depolama alanlarının sağlanması ve teşvik edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmış olup okul binasında ve bahçesinde geri dönüştürülebilir olan kağıt, cam, plastik, metal, pil atıkları için ayrı ve yeterli depolama ve toplama alanları oluşturulmuş, bu atıkların toplanmasına yönelik bir plan hazırlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda atık kategorisinden 2 kredi alınmıştır.

Sonuç olarak Breeam sertifikası geçer not alabilmek için yapılan çalışmaların 2019 yılı piyasa fiyat araştırması sonucu ortaya çıkan maliyet tablosu (tablo 2) ve kazanılan bölümlere ait puan tablosu (tablo 3) aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 2. Sertifikasyon çalışması kapsamında 2019 yılı piyasa araştırması sonucu ortaya çıkan maliyetler

YAPILAN ÇALIŞMA	MALİYET
Breeam Değerlendirme ve Danışmanlık	144.000,00 ₺
Güvenlik	60.000,00 ₺
Peyzaj	80.984,00 ₺
Tavan ve Cephe Boyası	82.200,00 ₺
EKB Belgesi	12.000,00 ₺
Klima ve Havalandırma Maliyeti Sis.	161.184,00 ₺
Bisiklet Park Alanları	11.250,00 ₺
Enerji Teşhir Cihazları	28.340,00 ₺
Musluk	70.595,00 ₺
Klozet ve rezervuarlar	32.926,00 ₺
Çim Sulama Sistemi	8.252,00 ₺
Yağmur Suyu Depolama	116.000,00 ₺
TOPLAM	807.731,00 ₺

Tablo 3. Sertifikasyon çalışmaları sonucunda ortaya çıkan puan tablosu

Breeam Kategorileri	Elde Edilen Krediler	Kullanılabilir Kredi	Elde Edilen Kredilerin Yüzdesi	Bölüm Ağırlığı	Bölüm Puanı
Yönetim	8	11	72,7	0,12	8,727
Sağlık Ve Refah	5	12	41,7	0,17	7,083
Enerji	10	29	34,5	0,43	14,828
Su	3	5	60,0	0,11	6,600
Malzeme	4	45	8,9	0,08	0,711
Atık	2	5	40,0	0,03	1,200
Yenilik					1,000
Breeam Sertifika Puanı					40,15

3.7. Geleneksel Yapı Maliyetinin Belirlenmesi

Yapılan çalışmada kullanılan okul projesinin geleneksel yapım maliyetinin hesaplanmasında Çevre ve şehircilik bakanlığının yayınladığı Mimarlık ve Mühendislik hizmet bedellerinin hesabında Kullanılacak 2019 yılı yapı yaklaşık birim Maliyetleri tebliğinde B grubu yapılar temel eğitim yapıları m² rayiç bedeli esas alınmıştır. Buna göre temel eğitim yapıları inşaat birim fiyatı 1210 tl/m² dir. Ele alınan okul projesinin inşaat alanı yaklaşık olarak 9200 m² olduğundan okulumuzun toplam yapım maliyeti 11 milyon Türk lirası olarak tespit edilmiştir [20].

4. SONUÇLAR

Çalışmada ele alınan okul binasının sürdürülebilir yapı sertifikasına sahip olması amaçlanmış ve öncelikle minimum (zorunlu) şartlar düşünülerek en az maliyetle maksimum fayda sağlayacak ve sertifikasyon programına göre geçer not almak için gerekli görülen uygulamalar belirlenmiş ve bu uygulamaların maliyetleri ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda Breeam sertifikasından toplamda 40,15 puan elde edilmiştir. Bu skor Breeam’e göre geçer not olan 30 puanın üstünde olduğu için yeterli görülmektedir.

Ayrıca ortaya çıkan mali tablo incelendiğinde bu skora ulaşmak için gerekli olan sistem ve uygulamaların toplam maliyeti yaklaşık 800 bin tl dir.

Breeam’e göre geçer puan almak için tasarlanan faaliyet ve sistem maliyetleri yapının toplam maliyetinin yaklaşık % 8’i kadar bir ek maliyet gerektirmektedir. Günümüz ve ülkemiz şartlarında Proje aşamasında

belirlenen maliyetler ile gerçekleşen maliyet farkları dikkate alındığında beklenmeyen giderlerle bu oran maksimum % 10 olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Öte yandan enerji ve su kategorilerinde yapılan düzenlemelerle günlük elektrik ve su tüketiminde gözle görülür düzeyde ve parasal değeri hesaplanabilen kaynak tasarrufu sağlanmıştır. Ayrıca atık malzemelerin geri dönüşümü, hava kalitesinin yükseltilmesi, sağlıklı ve güvenli bir ortamın sağlanması, sağlığa zararlı malzeme kullanımı, gri su tesisatıyla atık ve yağmur sularının değerlendirilmesi, ekolojik düzenlemelerle çevre tahribatının azaltılması, bisiklet kullanımı teşviki ile CO₂ salınımında azaltılması yapılan çalışmalar sonucu ortaya çıkan parasal değeri hesaplanamaz faydalar elde edildiği görülmektedir.

Sonuç olarak sürdürülebilir yeşil binaların yukarıda sayılan faydaları ile ortaya çıkan ek maliyet kıyaslandığında yeşil binaların insan hayatına sağladığı konfor, sağlıklı yaşam alanı ve yaşanabilir çevre açısından kabul edilebilir bir düzeyde olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan çalışma sonuçları itibarıyla, gerek Breeam sertifikası gerekse sürdürülebilir yeşil binalar hakkında literatürde ifade edilen sonuçlarla paralel olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Çelik, E. Yeşil Bina Sertifika Sistemlerinin İncelenmesi Türkiye’de Uygulanabilirliklerinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul; 2009.
- [2] Demir, A. Yeşil Okul: Çevre, Sağlık Ve Eğitime Etkileri, Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya; 2012.
- [3] Nebati E. E. Ekmekçi İ. Alışveriş Merkezleri İçin Yeşil Bina Performans Ölçüm Model Önerisi. Gazi Mühendislik Bilimleri Dergisi. 2018; 4(3): 241-255.
- [4] Kılıç M.Y. Yahşi S. Sürdürülebilir Enerji Kullanımının Yeşil Bir Ofise Uygulanması. Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2019; 9(3): 557-568.
- [5] Güven, A.F. Bahçelievler Belediye Başkanlık Binasının Enerji İhtiyacının Güneş ve Rüzgar Sistemi ile Karşlanması, Optimizasyonu ve Maliyet Analizi. Sinop Uni J Nat Sci 2017; 2(1): 24-36.
- [6] Somalı B. Ilıcalı E. Leed Ve Breeam Uluslararası Yeşil Bina Değerlendirme Sistemlerinin Değerlendirilmesi. IX. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi, İzmir; Mayıs 2009. p. 1081-1088.
- [7] Erdede S. B. Erdede B. Bektaş S. Sürdürülebilir Yeşil Binalar ve Sertifika Sistemlerinin Değerlendirilmesi. V. Uzaktan Algılama ve Coğrafi Bilgi Sistemleri Sempozyumu UZAL-CBS 2014: İstanbul; Ekim 2014. p. 521-36.
- [8] Jeffrey D. S. The Age of Sustainable Development. Columbia University Press. USA; 2015.
- [9] <http://www.breeam.org>, (02.01.2020).
- [10] <https://www.erketasarim.com>, (20.02.2020)
- [11] ERTEN D. Yeşil Binalar. Sürdürülebilir Üretim ve Tüketim Yayınları V, Rec Türkiye: Ankara; 2017.
- [12] Hava Kalitesinin Korunması Yönetmeliği. 19269 sayılı, 2 Kasım 1986 tarihli Resmî Gazete.
- [13] Yemşen B. İç Ortam Hava Kalitesinin İyileştirilmesinde Mekanik Havalandırma Sistemlerinin Etkisi Ve Endüstriyel Bir Uygulama, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir; 2016.
- [14] Yangından Korunması Hakkındaki Yönetmelik. 12937 sayılı, 19 Aralık 2007 tarihli Resmî Gazete.
- [15] Anonim. Yeni Nesil Otomasyon Yazılımı. Otomasyon Dergisi, 2018; 313(1): 92-94.
- [16] Şehir İçi Bisiklet Yolları Kılavuzu. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı. Ankara; Ağustos 2017.
- [17] Alaş A. Tunç T. Kışoğlu M. Gürbüzan H. Öğretmen Adaylarının Bilinçli Su Tüketimi Davranışları Üzerine Bir Araştırma: Atatürk Üniversitesi Örneği. Erzincan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi. 2009;11(2): 37-49,
- [18] KÖKTÜRK U. Sıhhi Tesisat Tekniğinde Su Tüketimi Hesabı. TMMOB Makine Mühendisleri Odası. Tesisat Mühendisliği 21, 2010
- [19] Akıncıtürk M. Sürdürülebilirlik Ve Ekoloji Açısından Sertifikalı Konutların Analizi: İstanbul Örneği, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Kültür Üniversitesi, İstanbul; 2015.
- [20] Mimarlık Ve Mühendislik Hizmet Bedellerinin Hesabında Kullanılacak 2019 Yılı Yapı Yaklaşık Birim Maliyetleri. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı: Ankara; 2019.



Ana Ürün Koşullarında Çift Sıralı Ekim Yöntemlerine Göre Oluşturulan Farklı Bitki Sıklığının, Değişik Büyüme Özelliğine Sahip Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) Çeşitlerinin Bazı Önemli Tarımsal ve Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri

Halil BAKAL^{1*}

¹ Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana, Türkiye
 Ad SOYAD ORCID No: 0000-0002-9645-9291

*Sorumlu yazar: hbakal@cu.edu.tr

(Alınış: 18.03.2020, Kabul: 27.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Yerfıstığı,
 Çift sıralı ekim,
 Bitki sıklığı,
 Meyve verimi,
 Tarımsal özellik

Öz: Bu araştırma, Çukurova Bölgesi ana ürün koşullarında çift sıralı ekim yöntemlerine göre oluşturulan farklı bitki sıklığının, değişik büyüme özelliğine sahip yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) çeşitlerinin bazı önemli tarımsal ve kalite özellikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada farklı büyüme özelliğine sahip NC-7 (yatık) ve Halisbey (yarı-yatık) olmak üzere Virginia tipi iki farklı yerfıstığı çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Araştırmaya konu olan deneme; iki farklı çift sıralı ekim yöntemine (70-25-70 ve 80-25-80) ve dört farklı sıra üzeri mesafesine göre (5, 10, 15 ve 20 cm) altı farklı bitki sıklığı (21.052, 19.047, 14.000, 12.666, 10.526 ve 9.523 adet da⁻¹) oluşturulacak şekilde düzenlenmiştir. Araştırma; Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazisinde 2017 ve 2018 yıllarında, bölünmüş parseller deneme desenine göre kurulmuş ve yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan yerfıstığı çeşitlerinde; bitki başına meyve sayısı, bitki başına meyve ağırlığı, 100 tohum ağırlığı, iç oranı, dekara meyve verimi, protein oranı ve yağ oranı gibi önemli özellikler incelenmiştir. Araştırma sonucunda, farklı bitki sıklığına göre denemeye alınan çeşitler arasında incelenen özellikler bakımından önemli farklılıklar saptanmıştır. Birim alandaki bitki sayısı artıkça, denemeye alınan her iki yerfıstığı çeşidinde de bitki başına meyve sayısı, bitki başına meyve ağırlığı, 100 tohum ağırlığı, iç oranı ve yağ oranı gibi özelliklere ait değerlerde önemli miktarda artışlar gözlenmiştir. Dekara meyve verimi değerleri, ekim yöntemine göre oluşturulan bitki sıklığına göre her iki yerfıstığı çeşidinde de farklı olmuş ve incelenen bu özellik bakımından da dekara en yüksek ortalama değer (668,3 kg da⁻¹) bitki sıklığı 12.666 adet da⁻¹ (80-25-80x15 cm ekim sıklığı) olarak yapılan ekimlerden elde edilmiştir.

55

The Effect of Plant Density on Pod Yield and Some Agronomic Characteristics of Different Growth Type Peanut Varieties (*Arachis hypogaea* L.) Grown as a Twin Row Planting Pattern in Main Crop Growing Condition

Keywords

Peanut,
 Twin-row planting pattern,
 Plant density,
 Pod yield,
 Agronomic trait

Abstract: This study was conducted at the University of Cukurova, Faculty of Agriculture research area in 2017 and 2018. The aim of this study was to determine the effect of plant density on pod yield and some agronomic characteristics of different growth type peanut varieties (*Arachis hypogaea* L.) grown as a twin row planting pattern in main crop growing condition. In this research; two different growth type peanut varieties (Virginia market type) such as NC-7 (spread growth type) and Halisbey (semi-spread growth type) were used as a plant material. The twin-row planting pattern was arranged as 70-25-70 and 80-25-80 cm, and six different plant densities such as 21.052, 19.047, 14.000, 12.666, 10.526 and 9.523 plant da⁻¹ were arranged using 10 cm, 15 cm and 20 cm intra-row plant spacing. The experimental design was a split plot with three replications. Pod number and pod weight per plant, 100 seed weight, shelling percentage, oil and protein content and pod yield per decar characteristics of varieties were investigated. As a two-year average; pod number and weight per plant, 100 seed weight, shelling percentage and oil content values were increased when the plant density was decreased. The pod yield per decar was varied according to planting pattern and plant density in each variety. The highest pod yield was obtained when the plant density was 12.666 plant da⁻¹ (80-25-80x15 cm planting pattern).

1. GİRİŞ

Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.); tohumlarında %45-55 oranında yağ, %20-30 oranında protein ve %18 oranında karbonhidrat ile önemli miktarda vitaminler ve madensel maddeler içermektedir. Yerfıstığı tohumları genellikle yağ sanayinde ve çerez olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, yerfıstığı sapları yeşil ve kuru ot olarak hayvan beslenmesinde değerlendirilmektedir [1].

Yerfıstığı tohumları içerdiği yüksek orandaki (%50-55) yağ nedeniyle soya, kolza ve çığıttan sonra dünyada en fazla üretimi yapılan dördüncü sıradaki yağlı tohum bitkisi olup, dünya bitkisel yağlı tohum ve ham yağ üretimi bakımından oldukça önemli bir yere sahiptir. 2018 yılı değerlerine göre dünya bitkisel yağlı tohum üretiminin %7,3'ünü (41,9 milyon ton), bitkisel ham yağ üretiminin ise %3,1'ini (5,95 milyon ton) yerfıstığı oluşturmaktadır [2]. 2019 yılı değerlerine göre ülkemizde toplamda 3,8 milyon ton yağlı tohum üretilmekte, bunun ise %4,5'ini (169.328 ton) yerfıstığı oluşturmaktadır. Ülkemizde üretilen yerfıstığının tamamına yakını çerez olarak tüketilmektedir [3].

Yerfıstığında tarımında bitki yoğunluğu, yetiştirilecek olan çeşidin gelişme formuna göre değişmektedir. Yarı yatık gelişim formuna sahip çeşitler yatık çeşitlere göre daha sık ekilmelidir. Çünkü yatık gelişme formuna sahip çeşitler daha fazla yaşam alanına ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca bitki yoğunluğu ekim zamanına göre de farklılıklar göstermektedir. İkinci ürün koşullarında vejetasyon süresi daha kısa olduğu için ana ürün koşullarında göre daha sık ekilmelidir. Son zamanlarda yerfıstığı tarımındaki mekanizasyonun gelişmesi ile sökümler ve harman işlemleri tamamen makinalar ile yapılmaktadır. Özellikle sökümler işleminin sağlıklı yapılabilmesi için sıra arası mesafesinin 70 veya 90 cm, sıra üzeri mesafesinin ise sık olması gerekmektedir. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; yerfıstığı tarımında, birim alandan elde edilecek verim üzerine etkili olan en önemli faktörlerin başında, bitki sıklığı gelmektedir [4]. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; dekadaki bitkisi sayısı azaldıkça, bitki başına elde edilen verim artmaktadır. Ancak dekadaki bitkisi sayısı azaldığından dolayı toplam verim azalmaktadır. Diğer yandan, dekadaki bitki sayısı arttıkça, bitki başına verim düşmekte, ancak dekadaki bitki sayısı arttığı için toplam verim artmaktadır. Bu artış belirli bir bitki yoğunluğuna kadar artmaktadır, daha sonra ise düşmektedir [5]. Yerfıstığı veriminde ortaya çıkan bu değişim, çeşitlerin gelişme formuna ve bölgenin ekolojik özelliklerine göre değişmektedir. Lanier ve ark. [6], Kiniry ve ark. [7], Rasekh ve ark. [8], Konlan ve ark. [9] ve Onat ve ark. [10] tarafından yapılan araştırmalarda, birim alandaki bitki sayısı arttıkça, verimde önemli artışların olduğu ortaya konmuştur.

Tarimo ve Blarney [11] yaptıkları bir çalışmada, birim alandan elde edilecek verim değerlerinin, çeşitlere ve ekim sıklığına göre değişim gösterdiğini, birim alandan elde edilen verimin, belirli bir bitki yoğunluğuna kadar artış gösterdiğini, daha sonra azalmaya başladığını bildirmişlerdir. Kadiroğlu [12], yerfıstığı tarımında, çift

sıralı ekim yönteminin uygulanması halinde, tek sıralı ekim yöntemine göre birim alandan daha yüksek verim alınabileceğini ortaya koymuştur. Kurt ve ark. [13], Virginia grubu yerfıstığı çeşidi ile ana ürün koşullarında yaptıkları bir çalışmada, en yüksek verimi, çift sıralı ekim yöntemine göre, dekadaki bitki sayısı 21.050 adet olduğunda elde etmişlerdir. Onat ve ark. [10], Halisbey yerfıstığı ile Çukurova bölgesi, ana ürün koşullarında yaptıkları bir çalışmada ise, birim alandaki bitki sayısı arttıkça, elde edilen meyve veriminde önemli artışların olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde, genellikle (% 90) yatık ve yarı yatık arasında gelişim formuna sahip Virginia grubuna giren NC-7 yerfıstığı çeşidi yetiştirilmektedir. Son yıllarda ise Çukurova Üniversitesi Zir. Fak. Tarla Bitkileri Bölümü tarafından ıslah edilen ve NC-7 çeşidine göre birçok özelliği bakımından daha iyi olan yarı yatık büyüme formuna sahip Halisbey ve Sultan gibi çeşitlerin ekimi her geçen gün daha fazla ekilmeye başlamıştır. Yerfıstığı yetiştiriciliğinde ekimi yapılan çeşitlerin büyüme formuna bakmaksızın genelde standart bir ekim sıklığına göre ekim yapmaktadırlar. Bitki yoğunluğu bitkinin gelişim formuna göre farklılık gösterdiği için elde edilen ürünün kalitesi ve veriminde büyük kayıplar oluşabilmektedir [6]. Ayrıca, yanlış uygulanan bir ekim sıklığı bitkilerin büyüme ve gelişimini olumsuz etkilemektedir. Birim alandaki bitki sıklığı çeşidin gelişim formuna göre doğru belirlenmez ise hasat sırasında sorunların çıkmasına ve hasat kayıplarının artmasına neden olmaktadır [1].

Yukarıda yapılan açıklamalardan da görüleceği gibi, birim alandaki bitki sayısı ile verim arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Bitki yoğunluğu arttıkça, elde edilen verim de artmaktadır. Normal ekim yöntemine göre, birim alandaki bitki sıklığı belirli bir sayıya kadar artırılabilen, ancak istenilen düzeye çıkarmak mümkün olmamaktadır. Oysa çift sıralı ekim yöntemine göre sıra üzeri mesafesini ayarlamak suretiyle, bitki sayısı istenilen düzeye çıkartılabilmektedir [13]. Yerfıstığı tarımında çift sıralı ekim yöntemi başta ABD olmak üzere, gelişmiş ülkelerde oldukça yaygın olarak uygulanmaktadır. Bu sayede verimde önemli artışlar sağlanmıştır [6,8,14-17]. Çift sıralı ekim yönteminde önemli olan konu, sıra arası ve sıra üzeri mesafesini ayarlamak suretiyle, çeşitlerin gelişme formuna göre birim alandaki optimum bitki sayısını sağlamaktır.

Bu çalışmanın amacı; yerfıstığı tarımının en yoğun olarak yapıldığı Çukurova bölgesinde ve ana ürün koşullarında, yatık ve yarı yatık gelişme formuna sahip yerfıstığı çeşitleri için, en yüksek verimin ve en kaliteli ürünün alınabileceği bitki sıklığını belirlemektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Deneme Materyali

Bu araştırma; Çukurova bölgesi ana ürün koşullarında çift sıralı ekim yöntemlerine göre oluşturulan farklı bitki yoğunluğunun, değişik büyüme özelliğine sahip yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) çeşitlerinin bazı önemli

tarımsal ve kalite özellikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada farklı büyüme özelliğine sahip NC-7 (yatık) ve Halisbey (yarı-yatık) olmak üzere Virginia grubu içerisinde yer alan iki farklı yerfıstığı çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. NC-7 çeşidi A.B.D orijinli, Halisbey ise Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından ıslah edilmiş olup, Türkiye orijinlidir. Araştırmaya konu olan denemeler; Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü deneme

arazisinde 2017 ve 2018 yıllarında olmak üzere iki yıl süreyle yürütülmüştür.

2.2. Deneme Yerinin İklim ve Toprak Özellikleri

Denemenin yürütüldüğü Adana ilinde Akdeniz iklimi etkili olmaktadır. Bu nedenle kışları ılık ve yağışlı, yazları sıcak ve kurak geçmektedir. Deneme süresince Adana iline ait bazı iklim değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Denemenin Kurulduğu Adana İline Ait Bazı İklim Değerleri (2017, 2018 ve Uzun yıllar (UY) iklim verileri)

Aylar	Ortalama sıcaklık (°C)			Toplam yağış (mm)			Nispi nem (%)		
	2017	2018	U.Y.	2017	2018	U.Y.	2017	2018	U.Y.
Nisan	18,5	20,1	17,5	63,2	33,0	51,1	60,7	61,2	60,1
Mayıs	21,8	24,4	21,7	44,4	25,6	47,1	68,8	62,8	63,2
Haziran	26,2	26,4	25,6	19,4	27,0	20,5	69,1	70,2	70,2
Temmuz	30,4	29,1	28,2	0,0	0,0	6,2	64,4	69,8	67,5
Ağustos	29,9	29,6	28,7	0,0	0,0	5,5	67,5	68,8	68,5
Eylül	27,8	27,9	26,1	11,2	1,2	17,6	66,1	63,6	65,4

Tablo 1'in incelenmesinden de görüleceği gibi, deneme süresince ölçülen ortama sıcaklık değerleri uzun yıllarda 17,5 °C ile 28,7 °C arasında değişirken, 2017 yılında ortalama sıcaklık değerleri 18,5-30,4°C ve 2018 yılında ise 20,1-29,6°C arasında değişim göstermiştir. Uzun yıllar verilerine göre yetiştirme sürecine ait toplam yağış miktarı 148,0 mm iken, 2017 yılı verilerinde bu değer toplam 86,8 ve 2018 yılında ise 149,2 mm olarak gerçekleşmiştir. Her iki deneme yılında da yağışın yeterli olmaması nedeniyle, bitkilerin ihtiyaç duyduğu yağış sulama ile karşılanmıştır. Hava nispi nemi ise 2017 yılında % 60,7-69,1, 2018 yılında ise % 61,2-70,2 arasında değişim göstermiştir.

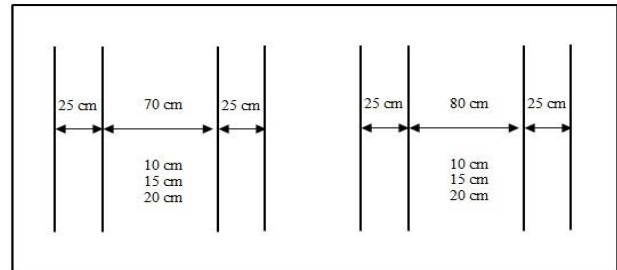
Denemenin kurulduğu topraklar Seyhan Nehrinin yan derelerinin getirdiği çok zengin alüvyonlardan oluşmuştur. Denemenin yapıldığı alana ait toprağın pH'sı her iki deneme yılında da 7,43-7,45 arasında olup, genellikle hafif alkali bir özellik göstermektedir. Toprağın P₂O₅ içeriği 2,8-3,0 kg da⁻¹, K₂O içeriği ise 70,5-75,0 kg da⁻¹ olarak bulunmuştur. Yerfıstığı tarımı için K₂O içeriği yeterli düzeyde olup, P₂O₅ ihtiyacı gübreleme ile karşılanmıştır. Toprağın kireç içeriği % 25,9-26,0 ve organik madde içeriği ise %1,4-1,6 olarak belirlenmiştir. Denemeler her iki yılda da birbirine çok yakın yerlerde kurulduğu için, toprak yapısında yıllara göre önemli farklılıklar gözlenmemiştir.

2.3. Araştırma Yöntemi ve Uygulama Tekniği

Araştırma Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Deneme Alanında, bölünmüş parseller deneme desenine göre üç tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Denemede çeşitler ana parsellere, bitki yoğunlukları ise alt parsellere yerleştirilerek ekim yapılmıştır. Ana ürün olarak ekim yapılan deneme arazisi pullukla sonbaharda 20-25 cm derinlikte sürülmüştür. Kışı bu şekilde geçiren toprak, ilkbaharda yüzlek olarak kültüvator ile karıştırılmıştır. Ekim öncesi dekara 30 kg 18.46.0 DAP (5,4 kg da⁻¹ N ve 13,8 kg da⁻¹ P₂O₅) gübresi uygulanarak

diskaro ile toprağa karıştırılmıştır. Yabancı ot kontrolü için, etkili maddesi "Trifluralin" olan Traflen (150 cc da⁻¹) isimli herbisit ekimden hemen önce toprağa uygulanarak karıştırılmıştır. Sonrasında deneme yerine iki defa tapan çekilerek deneme yeri ekime hazır hale getirilmiştir.

Ekim öncesi Şekil 1'de görüleceği gibi çift sıralı ekim yöntemine göre 5 metre uzunluğunda parseller oluşturulmuş ve sonra sıra üzeri mesafesi 10, 15 ve 20 cm olacak şekilde ekimler yapılarak parsellerdeki gerekli bitki yoğunlukları (Tablo 2) sağlanmıştır. Ekim öncesi tohumlar, 100 kg tohuma 400 g ilaç düşecek şekilde %80 Thiram ile ilaçlanarak Nisan ayının ilk haftasında ekimler elle yapılmıştır. Yetiştirme süresi boyunca gerekli bakım işleri (sulama, çapalama ve ilaçlama) tekniğine uygun olarak zamanında yapılmıştır. Yetiştirme süresi içerisinde; üst gübre olarak birincisi çiçeklenme başlangıcında (20 kg da⁻¹) ve ikincisi de meyve oluşum başlangıcında (20 kg da⁻¹) olmak üzere iki defada toplamda 40 kg da⁻¹ Üre (% 46 N) uygulanmıştır. Hasat öncesi, parseldeki bitkilerden örnekler alınarak, kabuk soyma yöntemine göre olgunluk durumları belirlenmiş ve Eylül ayının ikinci haftasında bitkiler elle hasat edilmişlerdir.



Şekil 1. Her İki Yerfıstığı Çeşidi İçin Uygulanan Çift Sıralı Ekim Yöntemi ve Sıra üzeri Uzaklığı

Tablo 2. Çift sıralı ekim yöntemine göre oluşturulan farklı bitki yoğunlukları ve çeşitlere göre kullanılan tohum miktarları

Ekim yöntemi (çift sıralı)	Sıra üzeri mesafesi (cm)	Bitki Yoğunluğu (adet da ⁻¹)	Tohum miktarı (kg da ⁻¹)	
			SULTAN	NC-7
70-25-70	10	21.052	24,2	22,7
70-25-70	15	14.000	16,1	15,3
70-25-70	20	10.526	12,1	11,4
80-25-80	10	19.047	21,9	20,6
80-25-80	15	12.666	14,6	13,7
80-25-80	20	9.523	10,9	10,3

2.4. İncelenen Özellikler ve Yöntemleri

Meyveler hasat olgunluğuna ulaştığında, her parselden tesadüfen 20'şer bitki hasat edilmiş ve bu bitkiler üzerinde gerekli sayım ve ölçümler yapılmıştır. Bu çalışmada; bitki başına meyve sayısı (adet bitki⁻¹), bitki başına meyve ağırlığı (g bitki⁻¹), 100 tohum ağırlığı (g), iç oranı (%), yağ oranı (%) ve protein oranı (%) gibi önemli bazı tarımsal ve kalite özellikleri incelenmiştir [18] meyve verimi (kg da⁻¹) değerleri, her parselin orta iki sırasındaki bitkilerin tamamı hasat edilerek tartılmış ve parsel verimleri bulunmuştur. Daha sonra parsel

verimleri esas alınarak dekara kabuklu meyve verimleri "kg da⁻¹" olarak hesaplanmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Bitki Başına Meyve Sayısı

Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinden, farklı bitki sıklığına göre elde edilen iki yıllık bitki başına ortalama meyve sayısı ve meyve ağırlığı değerleri ile EGF (%5)'e göre oluşan gruplar ve interaksiyon değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinin, farklı bitki yoğunluğuna göre elde edilen iki yıllık ortalama bitki başına meyve sayısı ve meyve ağırlığı değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar

Bitki Yoğunluğu (B) (adet da ⁻¹)	Bitki başına meyve sayısı (adet bitki ⁻¹)			Bitki başına meyve ağırlığı (g bitki ⁻¹)		
	Çeşitler (A)		Ortalama (B)	Çeşitler (A)		Ortalama (B)
	SULTAN	NC-7		SULTAN	NC-7	
21.052	15,4 g	9,9 h	12,7 F	29,9 h	21,3 ı	25,6 F
19.047	18,6 f	15,7 g	17,1 E	37,6 f	30,7 gh	34,2 E
14.000	23,0 d	16,0 g	19,5 D	39,7 e	31,1 g	35,4 D
12.666	25,8 b	19,6 e	22,7 C	49,5 c	40,9 d	45,2 C
10.526	26,1 b	22,4 d	24,2 B	50,9 b	41,5 d	46,2 B
9.523	31,3 a	23,9 c	27,6 A	61,2 a	49,2 c	55,2 A
Ortalama (A)	23,3 A	17,9 B	-	44,8 A	35,8 B	-
EGF (%5) Değerleri	EGF(%5 _A):0,95;EGF(%5 _B):0,47 EGF(%5 _{AxB}):0,67			EGF(%5 _A):1,01; EGF(%5 _B):0,77 EGF(%5 _{AxB}):1,09		

A: Çeşitler; B:Bitki Yoğunluğu

Tablo 3'ün incelenmesinden de görüleceği gibi bitki başına meyve sayısı bakımından, farklı bitki sıklığına göre denemeye alınan yerfıstığı çeşitleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptanmıştır (Tablo 3). İki yıllık ortalama değerlere göre bitki başına meyve sayısı Sultan çeşidinde 23,3 adet bitki⁻¹ iken, NC-7 çeşidinde 17,9 adet bitki⁻¹ olarak saptanmıştır. Bitki başına meyve sayısı Sultan çeşidinde daha yüksek bulunmuştur. Bitki başına meyve sayısı bakımından çeşitler arasında meydana gelen farklılık, çeşitlerin farklı genetik yapıya sahip olmalarından kaynaklanmaktadır [21, 9].

Bitki başına en yüksek meyve sayısı değeri 80-25-80 x 20 cm çift sıralı ekim yöntemine göre oluşturulan, 9.523 adet da⁻¹ bitki sıklığı bulunan parsellerden elde edilmiştir (Tablo 3). Meyve sayısı değerleri, çeşitlere ve bitki sıklığına göre farklılık göstermiştir. Bitki başına meyve sayısı değeri en yüksek (31,3 adet bitki⁻¹) 9.523 adet da⁻¹ bitki yoğunluğu bulunan Sultan çeşidinden, en düşük (9,9 adet bitki⁻¹) ise 21.052 adet da⁻¹ bitki yoğunluğu bulunan NC-7 çeşidinden elde edilmiştir. Ekim sıklığı azaldıkça, bitki başına meyve sayısının artmasının

nedeni, birim alandaki bitki sayısı azaldıkça, bitki başına düşen yaşam alanının artmasından ileri gelmektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, benzer konularda çalışmalar yapan araştırmacıların bulguları ile uyum içerisinde olmuştur [5,9,10,13,19-23].

3.2. Bitki Başına Meyve Ağırlığı

İki yıllık ortalama değerlere göre bitki başına meyve ağırlığı değerleri bakımından çeşitler ve ekim sıklıkları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çift sıralı ekim yöntemine göre düzenlenen farklı bitki sıklığına göre oluşturulan parsellere yapılan ekimlerde, bitki başına ortalama meyve ağırlığı değeri Sultan çeşidinde 44,8 g bitki⁻¹ iken, NC-7 çeşidinde 35,8 g bitki⁻¹ olmuştur. Bitki başına elde edilen meyve ağırlığının çeşitlere göre farklı olması, çeşitlere göre bitki başına meyve sayısının ve 100- tohum ağırlığının farklı olmasından kaynaklanmıştır.

İki yıllık ortalama değerlere göre bitki başına ortalama meyve ağırlığı değerleri, bitki sıklığına göre 25,6-55,2 g bitki⁻¹ arasında değişim göstermiştir. Birim alandaki bitki

sayısı azaldıkça, bitki başına elde edilen ortalama meyve ağırlığı değerlerinde önemli miktarda artışlar saptanmıştır. İki yıllık ortalama değerlere göre bitki başına en yüksek ortalama meyve ağırlığı değeri (61,2 g bitki⁻¹) Sultan çeşidinden ve 80-25-80 x 20 cm ekim yöntemine göre oluşturulan 9.523 adet da⁻¹ bitki yoğunluğunun bulunduğu parsellerden elde edilmiştir. Bitki başına meyve ağırlığının, bitki yoğunluğu arttıkça azalmasının nedeni, bitki başına yaşam alanının azalması ile oluşan meyve sayısının azalmasından kaynaklanmaktadır. Elde edilen bulgular; Ahmad ve ark. [21], Awal ve Aktar [22], Kurt ve ark. [13], Onat ve ark. [10], Zhao ve ark. [5] ve Yousif ve Hussain [23]'in bulguları ile de desteklenmektedir.

3.3. 100 Tohum Ağırlığı

Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinden, farklı bitki

yoğunluğuna göre elde edilen bitki başına iki yıllık ortalama 100 tohum ağırlığı ve iç oranı değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar ve interaksiyon değerleri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4'ün incelenmesinden de görüleceği gibi, 100 tohum ağırlığı değerleri bakımından, çeşitler ve bitki sıklıkları arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılıklar saptanmıştır. Farklı ekim sıklıklarına göre denemeye alınan çeşitlerin ortalama 100 tohum ağırlığı değerleri Sultan çeşidinde 131,4 g iken, bu değer NC-7 çeşidinde 113,7 g olmuştur. Sultan çeşidinde 100 tohum ağırlığının daha yüksek olması, çeşit özelliğinden ileri gelmektedir [24]. NC-7 çeşidi demir eksikliğine karşı çok hassas olduğu için, tohumlarını yeteri kadar geliştirememektedir.

Tablo 4. Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinin, farklı bitki yoğunluğuna göre elde edilen iki yıllık ortalama 100 tohum ağırlığı ve iç oranı değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar

Bitki Yoğunluğu (B) (adet da ⁻¹)	100 Tohum Ağırlığı (g)			İç Oranı (%)		
	Çeşitler (A)		Ortalama (B)	Çeşitler (A)		Ortalama (B)
	SULTAN	NC-7		SULTAN	NC-7	
21.052	125,8 e	108,1 j	117,0 E	64,13 i	69,57 e	66,85 E
19.047	128,8 d	109,8 i	119,3 D	64,69 h	69,61 de	67,15 D
14.000	132,4 c	112,1 h	122,3 C	64,84 h	69,85 cd	67,34 C
12.666	133,0 bc	114,6 g	123,8 B	65,23 g	70,06 bc	67,65 B
10.526	133,4 b	115,3 g	124,3 B	65,41 g	70,17 ab	67,79 B
9.523	134,8 a	122,0 f	128,4 A	65,68 f	70,40 a	68,04 A
Ortalama (A)	131,4 A	113,7 B	-	65,00 B	69,94 A	-
EGF (%5) Değerleri	EGF(%5 _A):0,52; EGF(%5 _B):0,56 EGF(%5 _{AxB}):0,79			EGF(%5 _A):2,83; EGF(%5 _B):0,19 EGF(%5 _{AxB}):0,26		

A: Çeşitler; B: Bitki Yoğunluğu

Denemeye alınan çeşitlere ait iki yıllık ortalama 100 tohum ağırlığı değerleri, bitki sıklığına göre Sultan çeşidinde 125,8-134,8 g arasında ve NC-7 çeşidinde ise 108,2-122,0 g arasında değişim göstermiştir. Ekim sıklığına göre meydana gelen bu artışlar, çeşitlere göre farklı düzeylerde olmuştur. Birim alandaki bitki sayısı azaldıkça, her iki yerfıstığı çeşidinde de ortalama 100 tohum ağırlığı değerleri 117,0 g'dan, 128,4 g'a kadar artış göstermişlerdir (Tablo 4). Birim alandaki bitki sayısı azaldıkça, bitki başına düşen yaşam alanı genişleyeceği için, bitkiler daha fazla kuru madde biriktirecekler ve bu nedenle de tohumlar daha iyi gelişecek ve 100 tohum ağırlığı daha fazla olacaktır. Bu çalışmada, 100 tohum ağırlığı değerleri bakımından elde edilen bulgular, benzer konularda araştırmalar yapan araştırmacıların bulguları ile de desteklenmektedir [25, 11, 13, 10, 5, 23].

3.4. İç Oranı

Tablo 4'ün incelenmesinden de görüleceği gibi denemeye alınan yerfıstığı çeşitlerinin iç oranı, iki yıllık ortalama değerlere göre birbirlerinden önemli derecede farklı bulunmuştur. İki yıllık ortalama değerlere göre iç oranı Sultan çeşidinde %65,00 ve NC-7 çeşidinde ise %69,94 olarak hesaplanmıştır. Sultan çeşidinde meyveler daha iri ve kabukları daha kalın olduğu için, iç

oranı (randımanı) daha düşük olmuştur. Bu durum çeşitlerin genetik yapılarına göre değişmektedir [24].

Çift sıralı ekim yöntemine göre oluşturulan farklı bitki yoğunluklarına göre denemeye alınan yerfıstığı çeşitlerinin iç oranı değerleri birbirlerinden önemli derecede farklılıklar göstermiştir. İki yıllık ortalama değerlere göre Sultan çeşidinde ait iç oranı değerleri, farklı bitki sıklığına göre %64,13-65,68 arasında, NC-7 çeşidinde ise %69,57-70,40 arasında değişim göstermiştir (Tablo 4). Denemeye alınan iki çeşidin ortalamasına göre, iç oranı değerleri bakımından bitki yoğunlukları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen, birim alandaki bitki yoğunluğu değerleri arasında çok büyük farklılıklar gözlenmemiştir. Birim alandaki bitki yoğunluğu azaldıkça, çeşitlere ait iç oranı değerlerinde önemli oranda artışlar saptanmıştır. İç oranı bakımından elde edilen değerler; Arıoğlu ve Arıoğlu [26], Rasekh ve ark. [8], Konlan ve ark. [9], Kurt ve ark. [13], Onat ve ark. [10]'nın bulguları ile de desteklenmektedir.

3.5. Yağ Oranı

Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinden, farklı bitki sıklıklarına göre elde edilen iki yıllık ortalama yağ ve

protein oranı değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar ve interaksiyon değerleri Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5'in incelenmesinden de görüleceği gibi denemeye alınan yerfıstığı çeşitlerine ait iki yıllık ortalama yağ oranı değerleri Sultan çeşidinde %46,51 iken, NC-7 çeşidinde %44,51 olarak bulunmuştur (Tablo 5). Yağ oranı değerleri bakımından çeşitler arasındaki fark,

istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çeşitlerin yetiştirme süresi de yağ oranı üzerine etkili olmaktadır. Erkenci çeşitlerin yağ oranı, geççi çeşitlere göre daha düşük olmaktadır. NC-7 çeşidi, Sultan çeşidine göre daha erkencidir. Ayrıca, çeşitlerin farklı genetik özelliğe sahip olmaları da, yağ oranı üzerine etkili olmaktadır [27, 28, 29, 30, 24].

Tablo 5. Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinin, farklı bitki yoğunluğuna göre elde edilen iki yıllık ortalama yağ ve protein oranı değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar

Bitki Yoğunluğu (B) (adet da ⁻¹)	Yağ Oranı (%)			Protein Oranı (%)		
	Çeşitler (A)		Ortalama (B)	Çeşitler (A)		Ortalama (B)
	SULTAN	NC-7		SULTAN	NC-7	
21.052	45,99	44,15	45,07 D	26,44	27,94	27,19 A
19.047	46,10	44,21	45,16 D	26,24	27,89	27,07 A
14.000	46,53	44,58	45,56 C	25,93	27,73	26,83 B
12.666	46,65	44,68	45,66 BC	25,70	27,62	26,66 BC
10.526	46,83	44,72	45,77 AB	25,51	27,52	26,52 C
9.523	46,99	44,73	45,86 A	25,25	26,88	26,06 D
Ortalama (A)	46,51 A	44,51 B	-	25,84 B	27,60 A	-
EGF (%5) Değerleri	EGF(%5 _C):1,44; EGF(%5 _{BS}):1,19 EGF(%5 _{CxBS}):Ö.D.			EGF(%5 _C):1,89; EGF(%5 _{BS}):0,17 EGF(%5 _{CxBS}):Ö.D.		

A: Çeşitler; B: Bitki Yoğunluğu

Çift sıralı ekim yöntemine göre oluşturulan farklı bitki yoğunluklarına göre denemeye alınan yerfıstığı çeşitlerinin yağ oranı değerleri birbirlerinden önemli derecede farklılıklar göstermiştir. İki yıllık ortalama değerlere göre Sultan çeşidine ait yağ oranı değerleri, farklı bitki sıklığına göre %45,99-46,99 arasında, NC-7 çeşidinde ise %44,15-44,73 arasında değişim göstermiştir (Tablo 5). Her iki çeşit için de yağ oranı değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar saptanmış olup, birim alandaki bitki sayısı azaldıkça, yağ oranı değerlerinde önemli oranda artış gözlenmiştir. İki yıllık ortalama değerlere göre, çeşit farkı gözetmeksizin, birim alandaki bitki yoğunluğuna göre yağ oranı değerleri %45,07-45,86 arasında değişim göstermiştir. Çalışmada en yüksek yağ oranı %45,86 ile 9.523 adet da⁻¹ bitki yoğunluğundan elde edilmiştir. Yağ oranı değerleri bakımından çeşit x ekim sıklığı arasındaki interaksiyon istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Yağ oranı bakımından elde edilen değerler; Onat ve ark. [10], Kurt ve ark. [13], Yousif ve Hussain [23] ve Kenetli ve Arıoğlu [31] tarafından elde edilen bulgular ile de desteklenmektedir.

3.6. Protein Oranı

Denemeye alınan yerfıstığı çeşitlerinin protein oranı değerleri %25,84-27,60 arasında değişim göstermiş olup, çeşitler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo 5). Protein oranı değeri, NC-7 çeşidinde (%27,60), Sultan çeşidine (%25,84) göre daha yüksek olmuştur. Protein oranı bakımından meydana gelen bu farklılıklar, çeşitlerin genetik yapılarının farklı olmasından ileri gelmektedir. Yağ oranı ile protein oranı arasında olumsuz bir ilişki olduğu için, yağ oranı yüksek olan çeşitlerde protein oranı düşük olmuştur [32, 28, 29, 30,24].

Tablo 5'in incelenmesinden de görüleceği gibi, iki yıllık ortalama değerlere göre farklı bitki sıklığına göre Sultan çeşidine ait protein oranı değerleri, %25,25-26,44 arasında, NC-7 çeşidinde ise %26,88-27,94 arasında değişim göstermiştir. Çift sıralı ekim yöntemine göre oluşturulan farklı bitki sıklıkları arasında, her iki çeşit için de istatistiksel olarak önemli farklılıklar oluşmuştur. İki yıllık ortalama değerlere göre birim alandaki bitki sayısı arttıkça, protein içeriğinde de önemli oranda artışlar saptanmıştır. Sultan ve NC-7 çeşitlerinin ortalamasına göre, birim alandaki bitki sayısı 21.052 adet da⁻¹ olduğunda protein oranı %27,19 iken, bitki sayısı 9.323 adet da⁻¹ a düştüğünde protein oranı da %26,07'ye gerilemiştir. Protein oranı değerleri bakımından Çeşit x Ekim sıklığı arasındaki interaksiyon istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Protein oranı bakımından elde edilen değerler bazı araştırmacıların bulguları ile de örtüşmektedir [10, 13, 31].

3.7. Dekara Meyve Verimi

Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinden, farklı bitki sıklıklarına göre elde edilen iki yıllık ortalama dekara meyve verimi değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar ve interaksiyon değerleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Ana ürün koşullarında denemeye alınan farklı büyüme özelliğine sahip yerfıstığı çeşitlerinin, farklı bitki yoğunluğuna göre elde edilen iki yıllık ortalama dekara meyve verimi değerleri ile EGF(%5)'e göre oluşan gruplar

Bitki Yoğunluğu (B) (adet da ⁻¹)	Meyve Verimi (kg da ⁻¹)		
	Çeşitler (A)		Ortalama (B)
	SULTAN	NC-7	
21.052	627,7 b	444,2 g	535,9 C
19.047	545,5 d	434,7 g	490,1 D
14.000	519,9 e	415,5 h	467,7 E
12.666	754,4 a	582,2 c	668,3 A
10.526	640,8 b	519,7 e	580,3 B
9.523	580,1 c	467,6 f	523,8 C
Ortalama (A)	611,4 A	477,3 B	-
EGF (%5) Değerleri	EGF(%5 _A):18,42; EGF(%5 _B):12,68 EGF(%5 _{AxB}):17,93		

A: Çeşitler; B: Bitki Yoğunluğu

Tablo 6'nın incelenmesinden de görüleceği gibi meyve verimi değerleri bakımından çeşitler ve ekim sıklıkları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çift sıralı ekim yöntemine göre düzenlenen farklı bitki sıklığına göre oluşturulan parsellere yapılan ekimlerde, dekara ortalama meyve verimi değeri Sultan çeşidinde 611,4 kg da⁻¹ iken, NC-7 çeşidinde 477,3 kg da⁻¹ olmuştur. İki yıllık ortalama değerlere göre, Sultan çeşidinden elde edilen dekara meyve verimi 134,1 kg da⁻¹ daha yüksek bulunmuştur. Sultan çeşidi, meyve verimi bakımından, NC-7 çeşidine göre daha üstün potansiyele sahiptir. Çeşitler arasında meydana gelen bu farklılık çeşitlerin verim potansiyeli bakımından (bitki başına meyve sayısı ve ağırlığı, 100 tohum ağırlığı gibi özellikler bakımından) farklı genetik yapıya sahip olmalarından kaynaklanmaktadır [6,9,24,33].

Çalışmada, dekara meyve verimi değerleri bakımından, çift sıralı ekim yöntemine göre oluşturulan her iki çeşide ait bitki sıklıkları arasında, istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptanmıştır. İki yıllık ortalama değerlere göre, dekara meyve verimi Sultan çeşidinde 519,9-754,4 kg da⁻¹ arasında, NC-7 çeşidinde ise 415,5-582,2 kg da⁻¹ arasında değişim göstermiştir (Tablo 6). İki yıllık ortalama değerlere göre dekara en yüksek meyve verimi; her iki çeşitte de 80-25-80 ekim yöntemine göre sıra üzeri mesafesi 15 cm (12.666 adet da⁻¹ bitki sıklığı) olacak şekilde ekim yapılan parsellerden elde edilmiştir. Tablo 6'nın incelenmesinden de görüleceği gibi, iki yıllık ortalama değerlere göre 12.666 adet da⁻¹ ekim sıklığında elde edilen ortalama meyve verim değeri Sultan çeşidinde 754,4 kg da⁻¹ ve NC-7 çeşidinde ise 582,2 kg da⁻¹ olmuştur. Dekara en düşük meyve verimi ise her iki çeşitte de 70-25-70x15 cm olacak şekilde çift sıralı ekim yöntemine göre, dekara 14.000 adet bitki⁻¹ bulunacak şekilde ekim yapılan parsellerden elde edilmiştir (467,7 kg da⁻¹). İki yıllık ortalama değerlere göre dekara en yüksek verim, birim alanda 12.666 adet da⁻¹ (668,3 kg da⁻¹) ve 10.526 adet da⁻¹ (580,3 kg da⁻¹) bitki bulunacak şekilde yapılan çift sıralı ekimlerden elde edilmiştir (Tablo 6). Aynı tablonun incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, çift sıralı ekim yöntemindeki kadar, sıra üzeri mesafesi de, birim alandan elde edilen verim üzerine etkili olmaktadır. Ancak, bu durum çeşitlere göre farklılık göstermemektedir. Bu çalışmada, dekara meyve verimi bakımından elde edilen değerler, bazı araştırmacılar

tarafından farklı bölgelerde yapılan araştırma bulguları ile de desteklenmektedir [5,8,9,10,13,16,21-23,34].

4. SONUÇ

Elde edilen iki yıllık değerlere göre, incelenen özellikler bakımından çeşitler ve ekim sıklıkları arasında önemli farklılıkların olduğu görülmüştür. Yerfıstığı tarımında uygulanan çift sıralı ekim yönteminin verim üzerine etkili olduğu, ancak, bu ekim yönteminde uygulanan sıra arası ve sıra üzeri uzaklığının doğru olarak belirlenmesi gerekmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, çeşitlerin büyüme özelliği, incelenen özellikler bakımından etkili olmadığı görülmüştür. Ana ürün yerfıstığı tarımında, çift sıralı ekim yöntemine göre dekara en yüksek verim, her iki çeşitten de 80-25-80x15 cm olarak uygulanan ekim yöntemindeki bitki sıklığına sahip parsellerden elde edilmiştir. Buna göre elde edilen verim değerleri Sultan çeşidinde 754,4 kg da⁻¹ ve NC-7 çeşidinde ise 582,2 kg da⁻¹ olarak gerçekleşmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Arıoğlu H.H. Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitapları Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Yayın No: A-70; 2014.
- [2] Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). İstatistikler, <http://www.fao.org/statistics/databases/en/> Erişim tarihi: 10.02.2020.
- [3] Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). Konularına Göre İstatistikler, <https://web.tuik.gov.tr/tr/classificationcategories/>. Erişim tarihi: 10.02.2020.
- [4] Morla FD, Giayetto O, Fernandez EM, Cerioni GA, Cerliani C. Plant density and peanut crop yield (*Arachis hypogaea* L.) in the peanut growing region of Cordoba (Argentina). *Peanut Science*. 2018;45(2):82-86.
- [5] Zhao C, Shao C, Yang Z, Wang Y, Zhang X, Wang M, Mc Giffen ME. Effect of planting density on pod development and yield of peanut under the pattern of precision planted peanuts. *Legume Research*. 2017;40(5):901-905.
- [6] Lanier JE, Jordan DL, Spears JF, Wells R, Johnson PD, Barnes JS, Hurt CA, Brandenburg RL, Bailey JE. Peanut response to planting pattern, row spacing and irrigation. *Agronomy journal*. 2004;96(1):1066-1072.
- [7] Kiniry JR, Simpson CE, Schubert AM, Reed JD. Peanut leaf area index, light interception, radiation use efficiency and harvest index at three sites in Texas. *Field Crop Research*. 2005;91(1):297-306.
- [8] Rasekh H, Asghari J, Safarzadeh MN, Zakernejad R. Effect of planting pattern and plant density on physiological characteristics and yield of peanut in Iran. *Research Journal of Biological Sciences*. 2010;5(8):542-547.
- [9] Konlan S, Sarkodie-Addo J, Asare E, Kombiok MJ. Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) varietal response to spacing in the Guinea Savana agro-ecological zone of Ghana: Growth and yield. *African Journal of Agricultural Research*. 2013;8(22):2769-2777.

- [10] Onat B, Bakal H, Güllüoğlu L, Arıoğlu H. The effects of row spacing and plant density on yield and yield components of peanut grown as a double cropped in Mediterranean environment in Turkey. *Turkish Journal of Field Crops*. 2017;22(1):71-80.
- [11] Tarimo AJP, Blarney FP. Effect of plant population density and cultivar on growth, yield and yield components in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *South African Journal of Plant and Soil*. 1999;16(2):74-78.
- [12] Kadiroğlu A. Yerfistiği (*Arachis hypogaea* L.) yetiştiriciliğinde farklı çeşitler ve sıra üzeri mesafelere göre tek ve çift sıralı ekim yöntemlerinin karşılaştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Isparta. 2012.
- [13] Kurt C, Bakal H, Güllüoğlu L, Arıoğlu H. The effect of twin row planting pattern and plant population on yield and yield components of peanut (*Arachis hypogea* L.) at main crop planting in Cukurova region of Turkey. *Turkish Journal of Field Crops*. 2017;22(1):24-31.
- [14] Mozingo RW. Skip-row planting and row pattern effects on Virginia-type peanut cultivars. *Agronomy Journal*. 1984;76(1):660-662.
- [15] Mozingo RW, Swann CW. Response of VA98R peanut twin versus single row planting patterns. *Proc. Am. Peanut Res. Educ. Soc.* 2000;32:43.
- [16] Sconyers LE, Brenneman TB, Stevenson, K.L. Effect of row pattern, seeding rate, and inoculation date on fungicide efficacy and development of peanut stem rot. *Plant Disease*. 2007;91(3):273-278.
- [17] Krik KR, Massey HF, Monfort WS, Thomas J, Jordan B, Schmidt WB. Single row vs. twin row digging losses for two Virginia type peanut varieties. An ASABE Meeting Presentation. 2013;13(1):620-657.
- [18] Güllüoğlu L, Bakal H, Onat B, Kurt C, Arıoğlu H. The effect of harvesting dates on yield and some agronomic and quality characteristics of peanut grown in Mediterranean region (Turkey) *Turkish Journal of Field Crops*. 2016;21(2):224-232.
- [19] Virk AS, Kaul JN, Bhangoo BS, Singh A. Influence of planting techniques and plant population on biology and pod productivity of summer groundnut varieties. *Oil Crops Research*. 2005;6(1):173-174.
- [20] Abdullah T, Rahmanna AA, Hardaningsih S, Rozi F. Increasing groundnut yield on dry land Alfisols in Indonesia. *Journal of Semi-arid Tropics Agricultural Research*. 2007;5(1):84-86.
- [21] Ahmad N, Rahim M, Khan U. Evaluation of different varieties, seed rates and row spacing of groundnut, planted under agro-ecological conditions of Malakand division. *Journal of Agronomy*. 2007;6(2):385-387.
- [22] Awal MA, Aktar L. Effect of row spacing on the growth and yield of peanut (*Arachis hypogaea* L.) stands. *International Journal of Agriculture Forestry and Fisheries*. 2015;3(1):7-11.
- [23] Yousif DP, Hussain A. Effect of genotype and plant density on growth characteristics and yield of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in central region of Iraq. *Agricultural Research and Technology Journal*. 2019;19(3):101-106.
- [24] Güllüoğlu L, Bakal H, Onat B, Kurt C, Arıoğlu H. Comparison of agronomic and quality characteristics of some peanut varieties grown as main and double crop in Mediterranean region. *Turkish Journal of Field Crops*. 2017;22(2):166-177.
- [25] Kvien SS, Bergmark CL. Growth and development of the Florunner peanut cultivars as influenced by population, planting date and water availability. *Peanut Sci*. 1987;14(1):11-16.
- [26] Arıoğlu E, Arıoğlu H. Ana ürün yerfistiği yetiştiriciliğinde bitki yoğunluğunun verim ve bazı tarımsal özelliklere etkisi. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi Erzurum. *Bildiriler Kitabı-II*. 2007; s 557-561.
- [27] Hassan F, Ahmed M. Oil and fatty acid composition of peanut cultivars grown in Pakistan. *Pakistan journal of Botany*. 2012;44(2):627-630.
- [28] Chowdhury FN, Hossain D, Hosen M, Rahman S. Comparative study on chemical composition of five varieties of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *World Journal of Agricultural Science*. 2015;11(5):247-254.
- [29] Escobedo RM, Luna PH, Torres ICJ, Moreno AO, Ramirez MCR. Physicochemical properties and fatty acid profile of eight peanut varieties grown in Mexico. *Journal of Food*. 2015;13(2):300-304.
- [30] Mahatma MK, Thawait LK, Bishi SK, Khatediye N, Rathnakumar AL, Lalwani HB, Misra JB. Nutritional composition and antioxidant activity of Spanish and Virginia groundnut (*Arachis hypogaea* L.) a comparative study. *J. Food Sci. Technology*. 2016;53(5):2279-2286.
- [31] Kenetli A, Arıoğlu H. Ana ürün koşullarında yetiştirilen farklı büyüme özelliğine sahip yerfistiği çeşitlerinde, sıra üzeri uzaklığının verim ve bazı tarımsal özelliklere etkisinin belirlenmesi. Uluslararası 5 Ocak Uygulamalı Bilimler Kongresi Adana 2020. *Bildiriler Kitabı*. 2020;s. 64-74.
- [32] Dwivedi SL, Nigam SN, Nageswara RC, Singh U, Rao KVS. Effect of drought on oil, fatty acids and protein contents of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seeds. *Field Crops research*. 1996;48:125-133.
- [33] Balkom KS, Arriaga FJ, Balkom KB, Boykin DL. Single and Twin-row peanut production within narrow and wide strip tillage systems. *Agronomy Journal*. 2010;102(2):507-512.
- [34] Shiyam JO. Growth and yield response of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to plant densities and phosphorus on an ultisol in Southeastern Nigeria. *Libyan Agriculture research Center Journal International*. 2010;1(4):211-214.



Türk Doğa ve Fen Dergisi

Turkish Journal of Nature and Science

www.dergipark.gov.tr/tdfd



Neoechinorhynchus rutili (Acanthocephala) ile Enfekte *Capoeta trutta* (Heckel,1843)'daki Değişikliklerin Biyokimyasal ve Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Abdurrahman GÜL¹, Hayati YÜKSEL², Cebrahil TÜRK³, Cüneyt ÇAĞLAYAN^{4*}

¹ Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

³ Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu, Su Ürünleri Programı, Bingöl, Türkiye

⁴ Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

Abdurrahman GÜL ORCID No: 0000-0003-4055-0229

Hayati YÜKSEL ORCID No: 0000-0002-1724-1770

Cebrahil TÜRK ORCID No: 0000-0001-7061-4858

Cüneyt ÇAĞLAYAN ORCID No: 0000-0001-5608-554X

*Sorumlu yazar: ccaglayan@bingol.edu.tr

(Alınış: 18.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Capoeta trutta,
Neoechinorhynchus rutili,
Biyokimyasal
Değişiklikler,
Histopatoloji

Öz: Bu çalışmada, Murat Nehri'nden temin edilen 30 adet *Capoeta trutta*'da (Karabalık) tespit edilen *Neoechinorhynchus rutili*'nin (Acanthocephala) parazitolojik olarak dağılımı incelendi. Ayrıca parazitle enfekte balıkların bağırsak dokularının biyokimyasal ve histopatolojik yönden incelenmesi amaçlandı. Parazit yaygınlığı % 66.6, ortalama yoğunluğu 38.5 ve ortalama bolluğu 25.66 olarak hesaplandı. Çalışmada; 1. Grup (Kontrol); parazitle enfekte olmayan balıklar, 2. Grup (parazitle az enfekte balık grubu); 30 parazitten az balıklar, 3. Grup (parazitle çok enfekte balık grubu); 30'dan fazla parazit olan balıklar olarak 3 gruba ayrıldı. Bağırsak dokusundaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri 1. ve 3. gruplar ile kıyaslandığında 2. Grupta daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Glutatyon (GSH) seviyesi enfekte balık gruplarına göre 1. Grupta daha düşük tespit edildi. Malondialdehit (MDA) seviyesinin 1. Grup ile kıyaslandığında, 2. ve 3. Gruplarda daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). Histopatolojik yönden yapılan incelemede kontrol grubuna göre enfekte balıkların bağırsaklarında patolojik değişikliklerin daha belirgin olduğu tespit edildi. Bu çalışmanın sonuçlarına göre *N. rutili* ile enfekte balıklarda parazit yoğunluğuna göre biyokimyasal ve histopatolojik değişimlerin olduğu gözlemlendi.

Biochemical and Histopathological Examination of Changes in Infected *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) with *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala)

Keywords

Capoeta trutta,
Neoechinorhynchus rutili,
Biochemical
Changes,
Histopathology

Abstract: In this study, the parasitological distribution of *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala) detected in 30 *Capoeta trutta* (Karabalık) obtained from the Murat River was examined. In addition, it was aimed to examine the intestinal tissues of parasitically infected fish in terms of biochemical and histopathology. Parasite prevalence was calculated as 66.6%, average density 38.5 and average abundance 25.66. This study was divided into three groups, respectively. Group 1 (control); fish that are not infected with parasites, group 2 (fish group that is less infected with parasites); fish less than 30 parasites, group 3 (very infected fish group with parasite); fish with more than 30 parasites. The enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) in intestinal tissue were lower in group 2 compared to groups 1 and 3 ($p < 0.05$). Glutathione (GSH) level was found lower in group 1 than in infected fish groups. The level of malondialdehyde (MDA) was found to be higher in groups 2 and 3 compared to group 1 ($p < 0.05$). Histopathologically, it was determined that pathological changes in the intestines of infected fish were more pronounced than the control group. According to the results of this study, biochemical and histopathological changes were observed in fish infected with *N. rutili* according to the parasite density.

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olan balık, yaşadığı ortamda çeşitli olumsuz faktörlerden etkilenmektedir. Sucul ekosistemlerde yetersiz beslenme ve çevresel koşulların değişkenliği balık sağlığı üzerinde bazen olumsuz etkilere neden olabilir. Bu gibi durumlar balıklarda parazitler hastalıklarının yoğun görülmesine neden olabilmektedir [1,2]. Hızlı gelişen balıkçılık sektörü açısından paraziter balık hastalıklarının belirlenmesi ve neden oldukları olumsuz etkilerin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Balıkları enfekte eden parazit türlerinden biri de *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephale)'dir. Bazı cyprinidlerde, özellikle *Capoeta trutta*'da (Karabalık) görülen *N. rutili*'nin varlığı yaygın olarak bildirilmektedir [3,4]. Bazı deniz ve tatlı su balıklarının bağırsaklarında *Neoechinorhynchus* soyuna ait türlerin bulunduğu tespit edilmiştir. Parazitin larvaları oval formda olup, ergin form ile benzerlik gösterir. *N. rutili*'nin, dişileri 5-10 mm uzunluğunda iken, erkekleri 2-6 mm uzunluğundadır. Vücut genellikle ventrale doğru kıvrılmış olup, arka uca doğru incelendiği rapor edilmiştir. Parazitin tutunmasına yarayan hortum (proboscis) çok kısa olup, üzerinde üçer çengelden oluşan altı sıra vardır [4-6].

N. rutili'nin balıklarda gelişme geriliği ve üreme sorunları gibi zararlı etkilere neden olmasının yanı sıra yoğun bulunmalarında ise balık ölümlerine neden olmaktadır. Parazitin hortumu kısa olduğundan, balığın bağırsak mukozasına sığ olarak yapışarak değişik seviyelerde yangıya sebep olmaktadır. Böylece meydana gelen kayıplar, ekonomik zararlara yol açmakta ve verimi azaltmaktadır [2,4,6,7]. *N. rutili* ile ilgili bölgemizde ve farklı bölgelerde birçok çalışma bulunmasına rağmen [3-7] parazitin *Capoeta trutta* üzerindeki biyokimyasal ve histopatolojik etkileri tam olarak ortaya konulmamış ve sınırlı sayıda çalışmalara rastlanmıştır.

Bu çalışma ile *N. rutili* ile enfekte *Capoeta trutta*'daki değişikliklerin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Balıkların Temini ve Parazitolojik Muayene

Bingöl Üniversitesi Etik Kurulunca (Sayı No: 2017/02/01) onaylanan çalışma av yasağının olmadığı dönemde, Murat Nehri'nden (38° 56' 18.08" Kuzey, 40° 38' 57.66" Doğu, yükseklik 1091 m ve 38° 48' 24.44" Kuzey, 40° 33' 18.05" Doğu, yükseklik 1003 m) serpmeye ağıyla avlanan 30 adet *Capoeta trutta* üzerinde yürütüldü. Balıklar 50 litrelik polietilen torbalar içinde canlı olarak Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Laboratuvarına getirildi. 600 litre hacminde su giriş ve çıkış düzeneği bulunan fiberglas tanklarda muhafaza edildi. Balıkların Geldiay ve Balık'a göre tür teşhisi yapıldı [8]. Balıkların total, çatal ve standart boyları ölçüm tahtası kullanılarak tespit edildi. Vücut ağırlıkları dijital terazi ile ölçüldü.



Şekil 1. Karabalık (*Capoeta trutta*) görünüşü

Çalışmada balıklar Brown'a göre trikain metan sülfanat (MS222) anestezisi altında ötenazi edilerek nekropsileri yapıldı [9]. Nekropside balıkların sindirim sisteminde *N. rutili* olup olmadığını görebilmek için ürogenital açıklıktan itibaren anteriördeki farinks seviyesine kadar uzunlamasına disseksiyon yapılarak karın boşluğu açıldı. Açılan karın boşluğundan bağırsak dokular dikkatlice alındı ve bir petri kabına konulup parazitolojik yönden incelendi. Bunu takiben fizyolojik su ortamında bağırsaklar cam petri kaplarına alınarak *N. rutili* olup olmadığına bakıldı. Balıkların parazitolojik durumu belirlenerek, *N. rutili* teşhisi; Ekingen [10] ve Williams'a [11] göre yapıldı.

Balıklar, *N. rutili* yoğunluğuna göre; parazitli olmayan (kontrol), az parazitli ve çok parazitli olmak üzere üç gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol grubu): Enfekte olmayan sağlıklı balık (n=10).
2. Grup (Parazitle az enfekte balık grubu): *N. rutili* sayısı az olan (< 30 adet) enfekte balık (n=10).
3. Grup (Parazitle çok enfekte balık grubu): *N. rutili* sayısı çok olan (>30 adet) enfekte balık (n=10).

Tüm gruplardaki balıklardan alınan bağırsak dokuları biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklerin incelenmesi için alındı.

2.2. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması

Balıklardan alınan bağırsak dokusu biyokimyasal tahliller için alınarak deneyler yapılmaya kadar -20 °C' de muhafaza edildi. Sonrasında bu dokular dolaptan çıkarılarak sıvı azot yardımıyla porselen havanda toz haline getirildi. Bu dokular %1.15 potasyum klorür (KCl) ile belli oranlarda dilüe edilerek ultra turrax cihazı (IKA T-18 BASIC) ile homojenize hale getirildi. Elde edilen homojenat 3500 rpm' de 15 dk. santrifüj edilerek süpernatant kısım malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon (GSH) ve protein tayini için kullanıldı.

2.3. Biyokimyasal Analizler

Bağırsak doku homojenatındaki SOD aktivitesi Sun ve ark. yöntemine göre ölçüldü [12]. Enzimin birimi U/g protein olarak belirtildi. KAT aktivitesi Aebi'nin metoduna göre ölçüldü. KAT, hidrojen peroksit (H₂O₂) yıkımını katalize eder. KAT tarafından H₂O₂'in yıkım hızı, H₂O₂'in 240 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü [13]. Birimi katal/g protein olarak ifade edildi. GPx aktivitesi Lawrence ve Burk'un belirlediği yöntemle göre ölçülüp, U/g protein olarak ifade edildi [14]. GSH düzeyleri

Sedlak ve Lindsay metoduna göre ölçüldü [15]. Birimi nmol/g doku olarak ifade edildi. Bağırsak dokusunda oluşan lipid peroksidasyon derecesini anlamak için doku homojenatında MDA seviyesi incelendi. MDA tayini Placer ve ark. tarafından geliştirilen metoda göre yapıldı. Bu yöntemde MDA bir lipid peroksidasyon aldehit ürünüdür ve bu yöntemde göre tiyobarbitürik asit (TBA) ile analiz sırasında pembe renkli olan bir yapı oluşumu gözlenir. Oluşan bu çözeltinin absorpsiyonu 532 nm'de dalga boyunda ölçüldü [16]. MDA seviyesi nmol/g doku olarak ifade edildi. Bağırsak dokusundaki protein miktarı Lowry ve ark. yöntemine göre ölçüldü [17].

2.4. Histopatolojik Analizler

Nekropsi sonucu, balıklardan bağırsak örnekleri alındı. Alınan örnekler % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Kırksekiz saatlik tespit işlemini takiben, rutin doku takibi amacıyla değişen derecelerde (%70, 80, 90, 100) alkol, ksilol ve parafin serisi içeren ototeknikon cihazına (TP 1020, Leica, Almanya) alındı. Hazırlanan parafin bloklar (327212, Sigma, Almanya) rotary mikrotom ile (RM 2155, Leica, Almanya) 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesildi. Alınan parafin kesitler Hematoksilin-Eosin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopunda (DM 2500, Leica, Almanya) histopatolojik olarak değerlendirildi.

2.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada biyokimyasal verilerin istatistiksel analizi için SPSS 12.0 paket programı kullanıldı. İstatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri "One-way Analysis of Variance (ANOVA)" testi ile belirlenirken gruplar arası farklar için Tukey testi kullanıldı. $p < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edilirken tüm değerler ortalama \pm standart hata (\pm SEM) olarak verildi.

3. BULGULAR

3.1. Parazitolojik Bulgular

Çalışmada, 30 adet *Capoeta trutta*'nın ortalama ağırlıkları 126.9 ± 68.04 g ve ortalama uzunlukları 24.4 ± 4.87 cm olarak tespit edildi. *N. rutili* yönünden yapılan parazitolojik incelenmelerde 10 balıkta *N. rutili*'ye rastlanmazken geri kalan 20 balıkta en az 2, en fazla 117 adet olmak üzere toplam 770 adet *N. rutili* balıkların bağırsaklarında tespit edildi.

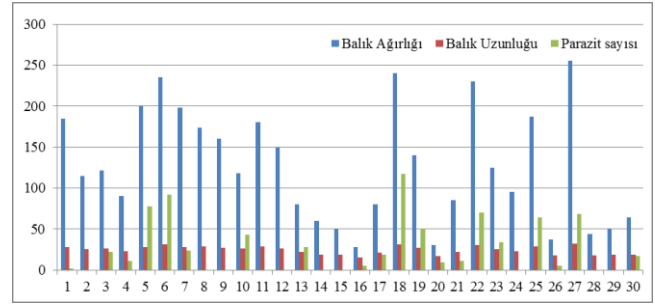
Tablo 1. Balık ağırlığı, uzunluğu ve *N. rutili* 'in korelasyon katsayıları

	Ağırlık (g)	Uzunluk (cm)	<i>N. rutili</i> sayısı
Balık Ağırlığı	1,000	0,968**	0,685**
Balık Uzunluğu	0,968**	1,000	0,632**
<i>N. rutili</i> sayısı	0,685**	0,632**	1,000

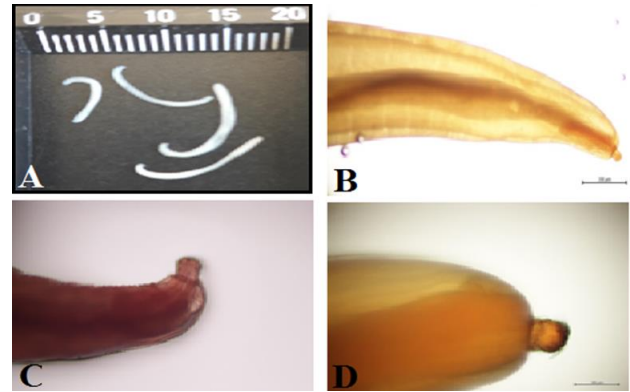
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Parazitin tespit işlemlerinin ardından şeffaflaştırma ve boyama işlemlerinin ardından makroskobik ve mikroskobik görüntüleri elde edildi. Parazitin yaygınlığı % 66.6, ortalama yoğunluğu 38.5 ve ortalama bolluğu 25.66 olarak hesaplandı. Parazit yoğunluğu ile balık ağırlığı ve balık uzunluğu arasında yapılan istatistiksel

analizde aralarındaki ilişkinin anlamlı olduğu tespit edildi.



Şekil 2. *N. rutili* sayısına bağlı olarak balık ağırlığı ve uzunluğu arasındaki değişim



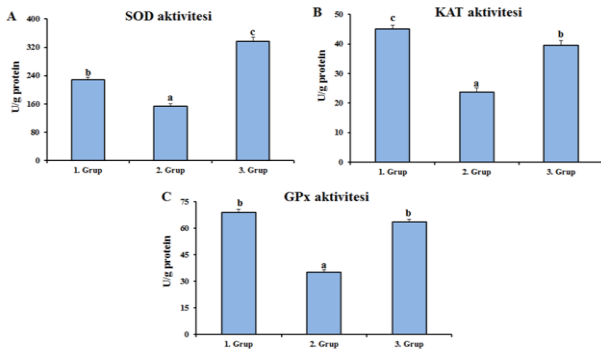
Şekil 3. (A) *N. rutili*'nin makroskobik görünüşü (Orjinal). (B) *N. rutili*'nin mikroskobik görünüşü (Orjinal). (C ve D) *N. rutili*'de proboscislerin görünüşü (Orjinal)

3.2. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Antioksidan enzim olarak bilinen SOD aktivitesi incelendiğinde; 1. grup (kontrol) ile karşılaştırıldığında 2. grupta (Parazitle az enfekte balık grubu) daha düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Öte yandan 3. grubun (Parazitle çok enfekte balık grubu) SOD enzim aktivitesi 1. gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$) (Şekil 4A).

Hidrojen peroksidin yıkılmasından sorumlu enzim olan KAT bağırsak dokusundaki aktivitesi incelendi. KAT enzimi aktivitesi 1. grup ile karşılaştırıldığında 2. grupta daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bununla birlikte, 1. grup ile karşılaştırıldığında 3. grupta KAT enzim aktivitesi anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Şekil 4B).

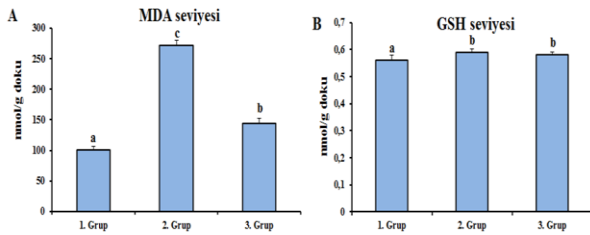
GPx enzimi substratı olan GSH varlığında hücrede bulunan H_2O_2 'in detoksifikasyonundan sorumludur. GPx aktivitesi incelendiğinde; 1. grup ile karşılaştırıldığında 2. grupta daha düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Diğer taraftan, 1. grup ve 3. grup arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktur. (Şekil 4C).



Şekil 4. (A) *Capoeta trutta*'da *N. rutili* kaynaklı bağırsak hasarında SOD enzim aktivitesi. (B) *Capoeta trutta*'da *N. rutili* kaynaklı bağırsak hasarında KAT enzim aktivitesi. (C) *Capoeta trutta*'da *N. rutili* kaynaklı bağırsak hasarında GPx enzim aktivitesi. Sütünlarda bulunan a, b ve c harfleri gruplar arasındaki farklılığın önemini göstermektedir ($p < 0.05$)

3.3. MDA ve GSH Seviyeleri

Oksidatif hasarın en önemli parametrelerinden biri olan MDA düzeyleri incelendiğinde, 2. ve 3. gruptaki MDA düzeylerinin 1. gruba göre anlamlı ölçüde arttığı ($p < 0.05$) tespit edilmiştir. MDA seviyesinin en yüksek değeri 2. grupta bulunmuştur ($p < 0.05$). Parazitin neden olduğu oksidatif hasarının bu grupta yoğun olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5A).



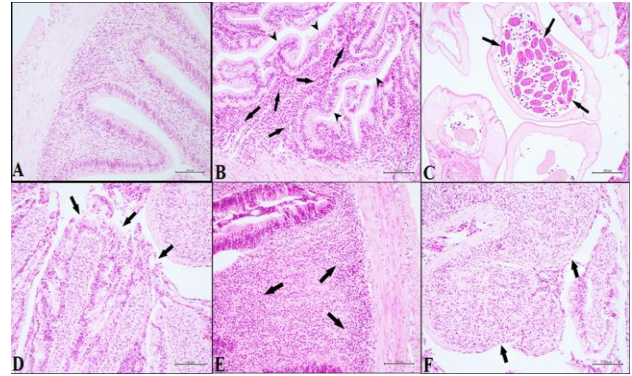
Şekil 5. (A) *Capoeta trutta*'da *N. rutili* kaynaklı bağırsak hasarında MDA seviyesi. (B) *Capoeta trutta*'da *N. rutili* kaynaklı bağırsak hasarında GSH seviyesi. Sütünlarda bulunan a, b ve c harfleri gruplar arasındaki farklılığın önemini göstermektedir ($p < 0.05$).

Enzimatik olmayan antioksidan olarak bilinen GSH seviyesi incelendiğinde; 2. ve 3. gruptaki GSH seviyeleri 1. gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Bununla birlikte, 2. ve 3. gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 5A).

3.4. Histopatolojik Bulgular

Çalışmada, 20'si enfekte ve 10'u enfekte olmayan toplam 30 adet *Capoeta trutta*, *N. rutili* yönünden makroskobik ve mikroskobik olarak incelendi. Bağırsak lümeninden çıkan *N. rutili* miktarına göre az (1-30 parazit) ve çok (30 ve üzeri parazit) enfekte olmak üzere iki gruba ayrıldı. Enfekte balıkların yapılan sistemik nekropsileri sonunda bağırsak lümenleri açıldığında 0.5 cm 1.5 cm arasında değişen boyutta soluk beyaz renkli parazitlerin bağırsak lümeninde serbest halde bulunduğu saptandı. Bu parazitlerin bağırsak mukozasında dikkati çeken makroskobik bir değişikliğe sebep olmadıkları görüldü. 1. Grup (kontrol) balıkların bağırsaklarının mikroskobik incelemesinde histopatolojik olarak herhangi bir değişikliğin şekillenmediği saptandı (Şekil

6A). Alınan örneklerin mikroskobik incelemesinde, az parazitli grup olarak değerlendirilen balıkların bağırsak mukozalarında epitelin sağlam olduğu lamina propria ve submukozada eozinofil lökosit ile lenfoplazmositer hücrelerden oluşan yangısal bir reaksiyonun geliştiği gözlemlendi (Şekil 6B). Çok parazitli olarak değerlendirilen grupta ise dört balıkta bağırsak lümeninde granüllü ve eozinofilik boyanan parazit yumurtaları (Şekil 6C), bağırsak mukoza epitelinde desquamasyon ve dejenerasyon (Şekil 6D), lamina propria ve submukozada ise daha yaygın ve şiddetli eozinofil lökosit infiltrasyonu ile lenfosit ve plazma hücrelerden oluşan yangısal bir yanıtın şekillendiği tespit edildi (Şekil 6E). Bu grupta bir balıkta lamina propriada yoğun bir bağ doku artışının şekillendiği ve bağırsak lümeninin daralmasına sebep olduğu gözlemlendi (Şekil 6F).



Şekil 6. (A) 1. grup (Kontrol). H&Ex20 (B) Bağırsak mukoza epitelini (ok başları) ve Lamina Propriada eozinofil lökosit ve lenfo-plazmositer hücre infiltrasyonları (oklar). H&Ex20 (C) Bağırsak lümeninde kistik bir kese içerisinde granüllü-eozinofilik parazit yumurtaları (oklar). H&Ex10 (D) Bağırsak mukoza epitelinde desquamasyon ve dejenerasyon (oklar). H&Ex20 (E) Bağırsak lamina propriasında eozinofil lökosit ve yaygın lenfo-plazmositer hücre infiltrasyonları (oklar). H&Ex20 (F) Bağırsak lümenine doğru bağ doku artışı ve lümen daralması (oklar). H&Ex20

4. TARTIŞMA

Yapılan birçok çalışmada, değişik balık türleri üzerinde parazitik muayenede, *N. rutili* parazitin tespit edildiği bildirilmiştir [2-6,18]. Bu çalışmada *N. rutili*'nin *Capoeta trutta*'daki enfeksiyon oranı % 66.66 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu oran, Sağlam ve Sarıyüpoğlu [6] % 43.95, Dörücü ve İspir [5] % 34.37'lik orandan yüksek, Barata ve Dörücü [3] tarafından bulunan % 84.12'lik orandan ise düşük bulunmuştur. Bu farklılığın muhtemel nedeni, gerek çalışma alanı gerekse incelenen balık türlerinin beslenme farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Keban Baraj Gölü'nün Koçkale bölgesi'nden avlanan 37 tane *Capoeta trutta* balığında yapılan araştırma ile *N. rutili*'nin varlığı araştırılmış ve araştırma sonucunda 37 balıktan 14'ünün enfekte olduğu belirlenmiştir. Parazitin yaygınlığını % 2.70, yoğunluğunu 14 ve bolluğunu 38 olarak bildirmişlerdir [6]. Benzer bir şekilde, Dörücü ve İspir, Keban Baraj Gölü'nde yaptıkları çalışmada, avlanabilen balık türlerinde iç parazitlerin varlığını ve çeşitlerini araştırmış ve inceledikleri 32 *Capoeta trutta*'da 175 adet *N. rutili* tespit etmişlerdir [5]. Ağrı ili Murat Nehri ile Erzurum ili Aras Nehri'nden temin edilen bazı balıkların endohelminthlerinin araştırılması

konulu bir çalışmada Aras Nehri'nden temin edilen *Capoeta capoeta*'larda rastlanan *N. rutili*'nin yaygınlığı % 58, ortalama yoğunluğu 2.2 ve ortalama bolluğu ise 1.3 olarak bulunmuştur [7]. Barata ve Dörücü'nün, Karakaya Baraj Gölü Kömürhan bölgesinden temin edilen 126 adet *C. trutta* balıklarında yaptıkları çalışmada; 106 *C. trutta* balığının bağırsağında *N. rutili*'yi tespit etmişlerdir. Çalışmalarında 106 tane enfekte *C. trutta* balığında bulunan *N. rutili* sayısı 3958 iken, yoğunluğu 37.33, yaygınlığı % 84.12, bolluğu ise 31.41 olarak rapor etmişlerdir [3]. Gül ve ark. Murat Nehri'nde (Genç-Bingöl) yakalanan 91 adet *C. trutta*'dan 40 tanesinin *N. rutili* ile enfekte olduğunu ve toplam parazit sayısını 322 olarak belirlemiş, parazit yaygınlığı % 43.95, yoğunluğu 8.05, bolluğu ise 3.54 olarak bulunmuştur [4]. Yapılan mevcut çalışmada ise ortalama ağırlıkları 126.9 ± 68.04 g ve ortalama uzunlukları 24.4 ± 4.87 cm olarak tespit edilen 30 adet *C. trutta*'nın *N. rutili* yönünden yapılan parazitolojik incelemelerinde 10 balıkta *N. rutili*'ye rastlanmazken geri kalan 20 balıkta en az 2 en fazla 117 adet olmak üzere toplam 770 adet *N. rutili* tespit edilmiştir. Parazitin yaygınlığı % 66.6, ortalama yoğunluğu 38.5 ve ortalama bolluğu 25.66 hesaplanmıştır.

Parazitler yerleştikleri organ, doku ve hücrelerde serbest radikal miktarlarını arttırması sonucu lipid peroksidasyonuna neden olup, konakçıda doku ve hücre hasarının şekillenmesine neden olduğu bildirilmiştir [19]. Artan serbest radikaller hücre membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması yoluyla lipid peroksidasyon olayını başlatırlar. Bu olayı takiben ortamda lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA seviyesi artar. MDA seviyesinin artması hücrelerin oksidatif hasara uğradığının en önemli bir kanıtıdır [20]. Yapılan çalışmada 1. grup ile karşılaştırıldığında 2. ve 3. gruplarda MDA seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla *N. rutili* ile enfekte olan balık bağırsak dokularında MDA seviyesinin daha yüksek olması, parazitin oksidatif hasarı artırdığını göstermektedir.

Glutasyon (GSH), hücrelerde en bol bulunan protein olmayan tiyoldür. GSH, hücreleri, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) dahil olmak üzere eksojen ve endojen toksinlere karşı korur [21-23]. Ayrıca, H_2O_2 , süperoksit radikalleri ve membran protein tiyollerini gibi serbest radikal türlerin yok edilmesinde de GSH'nin rol oynadığı bildirilmiştir [24]. Mevcut çalışmada 1. grup ile karşılaştırıldığında 2. ve 3. gruplarda GSH düzeyinin arttığı saptanmıştır. *N. rutili* ile enfekte olan balıkların bağırsak dokusunda parazitin neden olduğu hücre hasarına karşı GSH düzeyleri artmış olup, 2. ve 3. gruplarda aynı etki gözlenmiştir. Parazitik invazyonların bir sonucu olarak gelişen oksidatif strezen doku, organ ve hücrelerin hasar görmesine karşı antioksidan sistemlerin koruyucu bir rol oynadığı bildirilmiştir [25]. Bu bağlamda SOD enzimi süperoksit radikalini moleküler oksijene ve H_2O_2 'e dönüştürür. KAT enzimi ise H_2O_2 gibi zararlı bir bileşiği parçalayıp, moleküler oksijene ve suya dönüştürerek oksidatif hasarın derecesini azaltır [26]. Bu enzimler

aktif oksijen türlerini ortadan kaldırmak için beraber çalışırlar ve fizyolojik konsantrasyonlarda aktivitelevlerinin veya miktarlarının azalması sonucu hücresel lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasardan olumsuz etkilenmelerine neden olurlar [27]. Bir diğer antioksidan enzim olan GPx, substrat olarak kullandığı GSH varlığında H_2O_2 'in su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eder [26]. Yapılan çalışmada 1. grup ile karşılaştırıldığında 2. grupta antioksidan enzimler olan SOD, KAT ve GPx aktivitelevlerinin oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. 3. Grupta bulunan SOD enzimi 1. gruba göre istatistiksel olarak daha yüksek aktivite gösterirken, KAT ve GPx enzim aktivitelevleri ise daha düşük aktivite göstermiştir. Çalışma sonucunda *N. rutili* ile az enfekte olan balıklarda antioksidan enzim aktivitelevlerinde daha fazla düşüş yaşanırken, parazit ile çok enfekte olan balıkların enzim aktivitelevlerindeki düşüş daha az gerçekleşmiştir.

Çalışmada parazit tespit edilen balıkların bağırsak lümenlerinde değişen sayıda parazit tespit edildi. Bu balıkların bağırsak mukozalarında makroskopik bir değişikliğe rastlanılmadı. Ancak bu balıkların bağırsaklarının histopatolojik incelemelerinde az parazitli gruptaki balıkların bağırsaklarının mukoza epitelinde bir değişiklik gözlenmezken, çok parazitli grupta ise bağırsak mukoza epitelinde dejenerasyon ve desquamasyon gözlemlendi. Az parazitli gruptaki balıkların bağırsaklarında submukozada ve lamina propriada gözlenen yangısal değişiklikler, çok parazitli gruptaki balıklara nazaran daha hafif şiddette şekillenmişti. Gruplar arasında gözlenen histopatolojik değişikliklerin şiddetindeki farklılık balıkların maruz kaldığı parazit enfestasyonun yaygınlığı ve fazlalığına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

5. SONUÇ

Sonuç olarak, Murat Nehrinde yaptığımız bu çalışma ile *C. trutta*'daki *N. rutili*'nin varlığı tespit edilmiş ve parazitin yaygınlığı % 66.6 olarak belirlenmiştir. Biyokimyasal ve histopatolojik analiz sonuçlarının ise paraziter enfestasyona bağlı olarak değişim göstermiştir.

Teşekkür

Bu çalışma Bingöl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: BAP-VF.2017.00.002). Katkılarından dolayı BAP birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Arda M, Seçer S, Sarıyüpoğlu M. Balık Hastalıkları, Medisan Yayın Serisi: 61, II. Baskı Medisan Yayınevi, Ankara; 2005.
- [2] Dezfülü BS. *Cypria reptans* (Crustacea: Ostracoda) as an intermediate host of *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala: Eoacanthocephala) in Italy. J Parasitol 1996; 82 (3): 503-5.
- [3] Barata S, Dörücü M. Karakaya Baraj Gölü Kömürhan bölgesinden yakalanan bazı balıklarda

- endohelminthlerin araştırılması. Fırat Üniv Fen Bil Derg. 2014; 26(1): 59-68.
- [4] Gül A, Türk C, İspir Ü, Kırıcı M, Taysı MR, Yonar ME. Murat Nehri'nde (Genç-Bingöl) Avlanan Bazı Cyprinid'lerde *Neoechinorhynchus rutili* (Müller, 1780) (Acanthocephala)'nin Araştırılması. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2017; 14(3), 163-8.
- [5] Dörücü M, İspir Ü. Keban Baraj Gölü'nden avlanabilen balık türlerinde iç parazitler hastalıkların incelenmesi. Fırat Üniv. Fen ve Müh Bil Derg. 2005; 17(2): 400-4.
- [6] Sağlam N, Sarıyüpeoğlu M. *Capoeta trutta* balığında rastlanan *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala)'nin incelenmesi. T Parazitoloj Derg. 2002; 26(3): 329-31.
- [7] Aslan B. Ağrı ili Murat Nehri ile Erzurum ili Aras Nehri'nden yakalanan bazı balıkların endohelminthlerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Fen Bil Enst, Erzurum; 2009.
- [8] Geldiay R, Balık S. Türkiye Tatlısu Balıkları (Ders Kitabı). III. Baskı. Ege Üniv Su Ürünleri Fak. Yay. 2002.
- [9] Brown LA. 1993. Anesthesia and Restraint. In: Fish Medicine M.K. Stoskopf ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 79-90.
- [10] Ekingen G. Tatlı Su Balık Parazitleri. Fırat Üniv. Su Ürünleri Y.O, Elazığ: Fırat Ü. Basımevi, 1983.
- [11] Williams H, Jones A. Parasitic Worm of Fish. London and Bristol: Taylor & Francis, 1994.
- [12] Sun Y, Larry WO, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988;34(3):497-500.
- [13] Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, ed. Methods in Enzymatic Analysis. New York: Academic Press; 1983: 276-86.
- [14] Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem Biophys Res Commun. 1976;71:952-8.
- [15] Sedlak J, Lindsay RHC. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. Anal Biochem. 1968;25:192-205
- [16] Placer ZA, Cushmanni LL, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation (as malondialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem. 1966;16:359-64.
- [17] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193:265-75.
- [18] Mousavi-Sabet H, Sattari M. First report of *Neoechinorhynchus rutili* in *Cobitis faridpaki* (Cobitidae) from the southern Caspian Sea Basin. Croatian J Fisheries. 2013; 71:170-5.
- [19] Değer S, Değer Y, Ertekin A, Gül, A, Biçek K, Özdal N. Dictyocaulus viviparus ile Enfekte sığırlarda lipid peroksidasyon ve antioksidan durumunun saptanması. Türkiye Parazitoloj Derg. 2008;32(3):234-37.
- [20] Kandemir FM, Küçükler S, Çağlayan C. Beneficial effects of silymarin and naringin against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg. 2017;12(2):167-77.
- [21] Martin HL, Teismann P. Glutathione—a review on its role and significance in Parkinson's disease. The FASEB journal. 2009;23(10):3263-72.
- [22] Özaslan MS, Demir Y, Küfrevioğlu Oİ, Çiftçi M. Some metals inhibit the glutathione S-transferase from Van Lake fish gills. J. Biochem. Mol. Toxic. 2017; 31(11), e21967.
- [23] Özaslan MS, Demir Y, Aksoy M, Küfrevioğlu Öİ, Beydemir Ş. Inhibition effects of pesticides on glutathione-S-transferase enzyme activity of Van Lake fish liver. J. Biochem. Mol. Toxic. 2018; 32(9), e22196.
- [24] Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C, Gülçin I. Chrysin protects rat kidney from paracetamol-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy: a multi-biomarker approach. Sci pharma. 2017;85(1): 4.
- [25] Dede S, Deger Y, Deger S, Alkan M. Bazı endoparazitlerle (Fasciola sp.+ Trichostrongylidae sp.+ Eimeria sp.) enfekte koyunlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan durumunun saptanması. Türkiye Parazitoloj Derg. 2000;24(1):190-3.
- [26] Kirici M, Turk C, Caglayan C, Kirici M. Toxic Effects of Copper Sulphate Pentahydrate on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation of Freshwater Fish *Capoeta umbla* (Heckel, 1843) Tissues. Appl. Ecol. Environ. Res. 2017;15(3):1685-96.
- [27] Kaygusuzoğlu E, Caglayan C, Kandemir FM, Yıldırım S, Kucukler S, Kılınc MA, et al. Zingerone ameliorates cisplatin-induced ovarian and uterine toxicity via suppression of sex hormone imbalances, oxidative stress, inflammation and apoptosis in female wistar rats. Biomed Pharmacother. 2018;102:517-30.



Farklı Hıyar Genotiplerinin Işınlanmış Polenle Tozlaşma ile Partenogenetik Embriyo Oluşturma Frekansları ve Haploid Embriyo Gelişimi

Çağlar YILDIZ^{1*}, Mücahit KORUK¹, Ahmet Can DOĞAN¹, Ş.Şebnem ELLİALTIOĞLU²

¹Fidesan Tarım San. Tic. Ltd. Şti., Antalya, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

Çağlar YILDIZ ORCID No: 0000-0002-2499-5925

Mücahit KORUK ORCID No: 0000-0002-9404-5132

Ahmet Can DOĞAN ORCID No: 0000-0002-9575-7107

Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU ORCID No: 0000-0002-3851-466X

*Sorumlu yazar: caglarydz@gmail.com

(Alınış: 26.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Cucumis sativus,
Embriyo kurtarma,
Gamma ışını,
Partenogenetik

Öz: Işınlanmış polenlerle yapılan tozlaşmalar, kabakgiller familyasında partenogenetik haploid embriyo oluşumunu uyarmaktadır. Hıyarda da bu yöntemle haploid embriyo oluşabilmekte, embriyo kültürü yapılarak haploid embriyoların bitkiye dönüşümü sağlanabilmektedir. 16 adet hıyar genotipinden haploid bitki elde edebilmek için yapılan çalışmada Beith Alpha, silor, langa ve dikenli tipte ürün segmentlerine ait çeşitler seçilmiştir. Bitkiler çiçeklenmeye başladığında erkek çiçekler anthesisten bir gün önce toplanarak Ankara'da Atom Enerjisi Kurumunda 300 Gy olacak şekilde Gamma ışınına maruz bırakılmış, 12 saat içerisinde yeni açan dişi çiçeklerin tozlanmasında kullanılmıştır. Gelişen meyveler 21-45 günler arasında toplanarak aseptik koşullarda tohumları çıkartılmıştır. Hem tohum açma yöntemi hem de tohumların doğrudan kültüre alma yöntemi uygulanmıştır. Tohum açma yöntemi ile globular aşamadaki embriyoların da yakalanması ile daha fazla sayıda embriyo elde etmek mümkün olsa da bunlardan bitkiye dönüşüm düşük oranda gerçekleşmektedir. Doğrudan tohum ekimi yöntemiyle elde edilen çimlenmelerden bitkiye dönüşüm oranı yüksek olmakta, zamandan ve işgücünden tasarruf sağlanmaktadır. Genotiplerin verdiği partenogenetik yanıt ve bitkiye dönüşüm farklılık göstermiştir. Tozlamadan sonra 40 gün sınır süre olarak belirlenmiş, 38-40.günlerden sonra embriyoların tohum içerisinde nekroze olma oranı % 85 olarak bulunmuştur. En yüksek canlı embriyo oranı toplamda 19 embriyo ile dikenli tipteki Bazeal genotipinden elde edilmiştir. Hıyarda ışınlanmış polenle haploid elde etmeye alternatif olabilecek ovaryum kültürü tekniğinin geliştirilmesi, gamma ışın dozu denemelerinin yapılması önerilmektedir.

Parthenogenetic Embryogenesis Frequencies of Different Cucumber Genotypes by Irradiated Pollen Pollination and Haploid Embryo Development

Keywords

Cucumis sativus,
Embryo rescue,
Gamma ray,
Parthenogenetic

Abstract: Pollination with irradiated pollen stimulates the formation of parthenogenetic haploid embryos in the *Cucurbitaceae* family. Haploid embryos can be formed in cucumbers with this method and haploid embryos can be transformed into plants by embryo culture. In order to obtain haploid plants from 16 cucumber genotypes, varieties of Beith Alpha, mini, langa and spiny segments were selected. When the plants started to bloom the male flowers were collected one day before the anthesis and exposed to Gamma ray at 300 Gy at Atomic Energy Institution in Ankara. After pollination with irradiated pollens, growing fruits were collected between 21-45 days-old and seeds were extracted under aseptic conditions. Both seed opening method and direct in vitro seed cultivation (germination) method were applied. Although it is possible to obtain more embryos by capturing the embryos in the globular stage by seed opening method, the transformation rate to plants is low. Direct germination obtained by seed sowing method is high conversion rate to plants, saving time and labor. Parthenogenetic response of genotypes and differentiation to plant were different. 40 days after the pollination was determined as the limit time, the necrosis rate of embryos in the seed after 38-40 days was found to be 85%. The highest

viable embryo ratio was obtained from the spiny type Bazeal genotype with a total of 19 embryos. It is recommended to develop an effective ovary culture technique which can be an alternative to haploid irradiated pollen in cucumber and to perform gamma ray dose trials.

1. GİRİŞ

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyası, sebze olarak kullanılan türlerinin sayısı bakımından en zengin bitki ailelerinden biridir. Hıyar (*Cucumis sativus* L.), kabakgiller içerisinde yer alan ve dünya üzerinde yaygın olarak çok farklı tipleri yetiştirilen, ekonomik değeri yüksek bir sebzedir. Dünyada 2 144 672 ha alan üzerinde toplam 80 616 692 ton hıyar üretimi yapılmakta ve üretimin büyük çoğunluğu Asya kıtasında gerçekleşmektedir [1]. Hıyar üretimi bakımından yaklaşık 5.7 milyon tonluk üretim miktarı ile Çin birinci sırada yer almakta, bunu Rusya Federasyonu, İran ve Türkiye takip etmektedir. Tüm yıl boyunca üretilen hıyarın Türkiye'deki toplam yıllık üretim miktarı kayıtlarda 1 827 782 ton olarak verilmektedir. Türkiye'de hıyar üretimi hem açıkta sofralık ve turşuluk olarak yetiştirilmekte hem de örtü altında domates ve karpuzdan sonra en fazla üretimi yapılan tür olma özelliğini taşımaktadır. Sofralık hıyar üretimi 1 687 927 ton, turşuluk hıyar üretimi 139 855 ton ve örtü altı hıyar üretimi ise 1 221 625 ton'dur [2].

Açıkta yetiştirilenlerin önemli bir kısmı, örtü altı tarımında kullanılan hıyarların tamamına yakını F₁ hibrit çeşitlerden oluşmaktadır. Yılda yaklaşık 150 milyon adet hıyar tohumu kullanılmakta olup, bunun %80'i yurtdışından ithalat yoluyla karşılanmaktadır. Son yıllarda yerli tohum firmalarının kendi Ar-Ge işletmelerini kurmaları, devlet olanakları ile alınan proje ve teşvikler sayesinde sebze türlerinin bir kısmında yerli hibrit çeşitler piyasada yer almaya başlamıştır. Ülkemizde yabancı orijinli F₁ hibrit çeşitler büyük ölçüde yerel çeşitlerin yerini alırken, yerli F₁ hibrit çeşit ıslah çalışmalarına 20. yüzyılın son çeyreğinde ağırlık verilmeye başlanmıştır [3,4]. Hıyarın da içinde yer aldığı *Cucumis* cinsi Afrika ve Asya kıtalarının tropik veya subtropik bölgelerinden dünya geneline yayılış göstermişlerdir [5,6]. Hıyar Asya grubuna dahil olup, Hindistan orijinlidir [7]. Bununla birlikte ülkemiz, hıyar genetik kaynakları ve varyasyon bakımından oldukça zengindir. Yerli hibrit çeşitlerin ıslah edilmesinde hız kazandıracak tekniklerin kullanılması gereklidir.

Hıyar yabancı tozlanan bir türdür ve bu nedenle klasik ıslah çalışmaları 8-10 yıl gibi uzun bir zaman almaktadır. ıslah süresini kısaltmak için farklı biyoteknolojik yöntemler uygulayarak modern ıslaha geçmek gereklidir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden biri dihaploid saf hatları oluşturmak amacıyla dihaplodizasyon tekniğinin kullanılmasıdır [8]. *Cucurbitaceae* familyasındaki önceleri hem anterler hem de ovul ve ovaryumlar *in vitro* kültüre alınarak denenmiştir [9,10]. Androgonesis, kabakgillerde etkin bir yöntem olarak görülmemiş, ovul-ovaryum kültürlerinden elde edilen bitki sayıları ise çok az olmuştur. 1990'lı yıllara doğru gama ışını uygulanmış polenlerle tozlamalar yaparak *in situ* haploid embriyo uyartımı ve bu embriyoların özel besin ortamları

üzerinde *in vitro* kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmesi araştırılmıştır. Bu yolla *Cucumis* türlerinin ilk haploid embriyoları kavunda elde edilmiş ve bu embriyoların *in vitro* bitkiye dönüştürülmesi için E20A ortamı geliştirilmiştir [11]. Daha sonra aynı teknik hıyarda [12,13] denenmiştir. Türkiye'de 1995 yılında Çağlar tarafından yapılan Doktora çalışmasında ilk hıyar dihaploidleri elde edilmiştir. Hıyar, ışınlanmış polen tekniği ile partenogenetik embriyo oluşturmaya uygun bir türdür. İlerleyen yıllarda hıyarda ovaryum kültürü tekniği de geliştirilmiş ve ışınlanmış polenle uyartım ve partenogenetik embriyo oluşturma yöntemine alternatif olarak belirlenmiştir [14,15]. Çetinkaya [16], ovaryum kültürünü optimize ederek hıyarda haploid bitkilerin başarıyla elde edilebileceğini ortaya koymuştur. Erol [17] ise hıyarlarda ovül ve ovaryum kültürlerini karşılaştırarak en uygun haploid embriyo elde etme yöntemini belirlemeye çalışmıştır. Aynı zamanda Co⁶⁰ ışın kaynağında 300 Gy ışın dozu uygulayarak ışınlanmış polen tekniğini de kullanmış, 14 adet haploid bitki elde etmiştir. Toprak [18], 23 adet hıyar genotipinde ovaryum kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme üzerinde çalışmış olup genotip etkisinin çok belirgin olduğu, uygun protokol geliştirilmesi çalışmalarına devam edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Çalışmalar hıyarda partenogenesis için genotipe bağlı olmakla birlikte bir yakınlık bulunduğunu, ıslah çalışmalarında bu özellikten yararlanma yoluna gidilmesi gerektiğini göstermektedir.

Işınlanmış polen tekniğinde embriyo kurtarma aşaması çok zahmetli, emek ve zaman alıcı bir işlemdir. Bu nedenle en uygun işlem serisinin kullanılması kısa zamanda çok sayıda kültürün yapılmasını ve en yüksek oranda embriyo çıkışı sağlayabilecektir. Bu konuda Baktumur [19]'un kavunlarda yaptığı çalışmada 'tohumların tek tek açılması' ve 'tohumların doğrudan besin ortamına ekimi' yöntemleri arasında haploid embriyo oluşumu bakımından istatistiksel fark çıkmamış olup her ikisi de uygulanabilir bulunmuştur.

Çalışmamızın amacı, farklı tiplerdeki 16 adet hıyar çeşidinde ışınlanmış polen tekniği kullanarak haploid embriyo ve bitki elde etme üzerinde tek tohum açma ve doğrudan tohum ekimi yöntemlerinin etkisini incelemektir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma 2019 ilkbahar döneminde Fidesan Tarım San. Tic. Ltd. Şti. Serik Çakallık Köyü Araştırma İstasyonu'nda bulunan yetiştirme serasında ve bitki doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak beith alpha, silor, langa ve dikenli tipte ürün segmentlerine ait 16 adet hıyar çeşidi bitkileri kullanılmıştır. Mini hıyar tipine ait 5 adet (Kahraman, Elanor, Ekvator, Ktır ve Zincir), beith alpha tipine ait 6 adet (Termessos, Talisya, Ps 64, Melen, Cemre ve 6608), tarla tipi beith alpha tipine ait 2 adet (Altay ve Toros),

dikenli tipe ait 2 adet (9608 ve Bazeal), uzun tipe ait 1 adet (Langa) genotiplerine ait 20'şer adet bitki seraya dikilmiş, bakımları yapılarak çiçeklenme aşamasına getirilmiştir. Çiçeklenme aşamasında oluşan erkek çiçekler polen ışınlanması için kullanılacak materyali oluşturmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. Işınlanmış polen tekniğinde kullanılacak olan hıyar bitkilerinin seradaki görünümü ve erkek çiçekler

Denemelerde yer alan çeşitlerdeki dişi çiçekler, tozlama öncesinde anthesisten 1 gün önceki aşamada (kapalı durumda bulunan ve taç yaprakların uç kısımlarının yeşilden sarıya dönüşme aşamasında) yabancı çiçek tozlarının çiçeğe girişini engellemek için tül ile kapatılarak izole edilmiştir (Şekil 2). Işınlanmış polenle tozlanan çiçeklerde meyve tutumunu artırmak amacıyla tozlama yapılan bitkilerde açan diğer dişi çiçekler koparılarak bitkiden uzaklaştırılmıştır.



Şekil 2. Hıyarda anthesisten bir gün önceki dişi çiçekler ve bunların izolasyonu

Çiçek tozlarının elde edilmesi için anthesisten bir önceki güne rastlayan büyüklükte, henüz açılmamış fakat iyi gelişmiş erkek çiçek tomurucukları seçilerek toplanmıştır. Bu tomurucuklar taç ve kısmen çanak yapraklardan ayrıldıktan sonra 9 cm çaplı cam petri kaplarına konularak gama ışınıyla muameleye tabi tutulmuştur. Ankara'da Atom Enerjisi Kurumu'nda ışınlamaya maruz bırakılan anterler, 12 saat içerisinde yeni açan dişi çiçeklerin tozlanmasında kullanılmıştır. Işınlamada, Co⁶⁰ kaynağından gelen 300 Gy dozunda gama ışını kullanılmıştır [20,21] (Şekil 3).



Şekil 3. Anthesisten bir gün önce toplanan erkek hıyar çiçekleri, petri kutularında ışınlama işlemi ve ışın kaynağı

Işınlanmış polenlerle tozlama, 1-2 erkek çiçek tomurcuğunun stigma üzerine sürülmesi şeklinde yapılmıştır. Tozlamadan sonra yabancı polen girişini engellemek için çiçekler taç yaprakların ucundan penslerle kapatılmıştır. İlerleyen günlerde dişi çiçeğin şişkinleşmeye başladığı aşamada keseler çıkarılmıştır. Tozlama işlemini 17 Mayıs tarihinde yapılmıştır. Meyve gelişimleri sağlıklı bir şekilde elde edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Işınlanmış polenlerle tozlanan hıyar dişi çiçeklerinden gelişen meyveler (28 günlük)

Embriyo kurtarma işlemi için ışınlanmış polenle tozlanıp tutan meyveler 21. günde seradan toplanarak laboratuvara getirilmiş ve önce distile saf su ve %10'luk sodyum hipoklorit çözeltisi ile yıkanmış, yüzey sterilizasyonu için kabin içerisindeki yanmaz küvet içerisine alınmış meyveler saf alkol yardımıyla yakılarak steril hale getirilmiştir. Steril hale gelen meyveler, içerideki tohumlara zarar vermeden, metal saplı bir bıçakla boyuna kesilerek tohumlar ayıklanmış, sayılmış ve steril kaplar içerisine alınmıştır. Tohumlar pens ve bistüri yardımıyla tek tek açılarak embriyo kurtarma işlemine geçilmiştir [19]. Tohumların bir kısmı da doğrudan petrilere MS besin ortamlarına ekilmiştir.

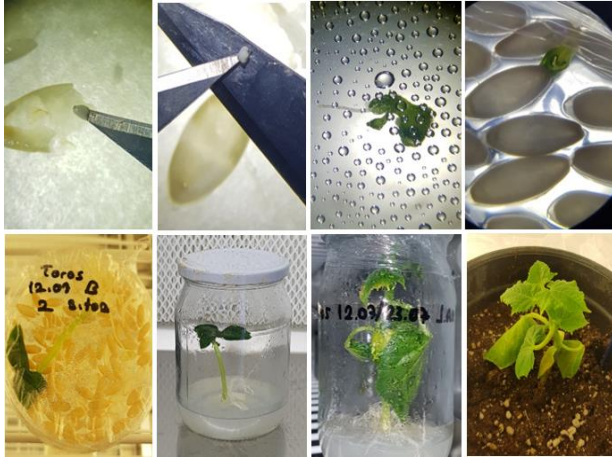
3. BULGULAR

16 farklı hıyar genotipinde tek tek tohum açma yöntemi veya doğrudan tohum ekimi yöntemiyle elde edilen kültürlerin 25 °C'deki ve iklim odasında inkübe edilmesinin ardından embriyo ve bitki gelişimi özellikleri incelenmiştir. 25-45 günler arasında toplanarak aseptik koşullarda tohumları çıkartılmıştır. Hem tohum açma yöntemi hem de tohumların doğrudan kültüre alma yöntemi uygulanmıştır. Her çeşitten alınan meyvelerden yarısı tek tek tohum açma yöntemi yarısı da doğrudan tohum ekiminde kullanılmıştır. Çeşit bazında kullanılan meyve sayıları ve uygulanan yöntem ile elde edilen embriyo sayıları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Genotiplere ait meyve sayıları, uygulanan yöntem ve elde edilen embriyo sayıları (adet)

Genotip	Meyve Sayısı	Tohum Açma	Tohum Ekimi	Embriyo Sayısı (Tohum ekimi/Tohum açma)
Kahraman	18	9	9	3/0
Elanor	20	10	10	2/0
Ekvator	12	6	6	0/3
Kıtır	14	7	7	2/0
Zincir	10	5	5	1/0
Termessos	12	6	6	3/0
Talisya	14	7	7	1/1
PS64	24	12	12	0/0
Melen	10	5	5	0/0
Altay	6	3	3	2/0
Toros	12	6	6	2/0
Cemre	5	2	3	1/3
6608	23	12	13	1/1
9608	11	5	6	0/0
Bazeal	10	5	5	5/14
Langa	7	4	3	0/0

Tohum açma yöntemiyle elde edilen embriyolar, gelişen bitkicikler ve doğrudan tohum ekimi ile elde edilen haploid hıyar bitkicikleri gösterilmektedir. Sağlıklı gelişenler saksılara aktarılmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Tohum açma yöntemiyle kurtarılan embriyolar ile kültüre alındıktan yaklaşık 10 gün sonraki embriyoların görüntüleri ve petride doğrudan tohum ekiminde çimlenen tohumlar, haploid hıyar bitkicikleri ve dış koşullara aktarım

Tohum açma yöntemi ile globular aşamadaki embriyoların da yakalanması ile daha fazla sayıda embriyo elde etmek mümkün olsa da bunlardan bitkiye dönüşüm düşük oranda gerçekleşmektedir. Doğrudan tohum ekimi yöntemiyle elde edilen çimlenmelerden bitkiye dönüşüm oranı yüksek olmakta, zamandan ve işgücünden tasarruf sağlanmaktadır. Baktemur [19] tarafından kavunda iki yöntemin de kullanılabilir olduğu belirtilmiş olmakla birlikte, hıyarda tek tohum açma ile yaşayabilir bitkicik elde etme oranının düşük olduğu, doğrudan tohum ekiminin daha elverişli bulunduğu söylenebilir.

4. SONUÇ

Hıyarda ışınlanmış polenle embriyo uyartımına genotiplerin verdiği partenogenetik yanıt ve bitkiye dönüşüme yakınlık özelliği farklılık göstermiştir. Tozlamadan sonra 40 gün sınır süre olarak belirlenmiş, 38-40.günlerden sonra embriyoların tohum içerisinde nekroze olma oranı % 85 olarak bulunmuştur. En yüksek canlı embriyo oranı toplamda 19 embriyo ile dikenli tipteki Bazeal genotipinden elde edilmiştir. Langa tipteki hıyar genotipinde ise hiçbir oluşum belirlenmemiştir. Benzer bulgular Erol [17] tarafından da rapor edilmektedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda hıyarda ışınlanmış polenle haploid elde etmeye alternatif olabilecek ovaryum kültürü tekniğinin geliştirilmesi, genotip bazında uygun ortamların ve koşulların sağlanması [18]; ışınlanmış polen tekniği için ise doğrudan tohum ekimi yönteminin kullanılması ve gama ışın dozu denemeleri yapılması önerilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK TEYDEB 75879 No'lu Proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. 12. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu'na bildirili katılım sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] FAO; 2017 [Erişim Tarihi:30.08.2019]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- [2] TÜİK; 2017 [Erişim Tarihi:30.08.2019]. <http://www.biruni.tuik.gov.tr/medas/>
- [3] Gözen V. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) Örtüaltı Yetiştiriciliğine Uygun Hibrit Çeşit Islahında Morfolojik Karakterizasyon, Hibrit Kombinasyonları ile Hibrit Tohum Verim ve Kalitesinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 196 s, Ankara; 2008.

- [4] Sarı N, Tan A, Yanmaz R, Yetişir H, Balkaya A, Solmaz İ, Aykas L. General status of cucurbit genetic resources in Turkey. *Cucurbitaceae*, Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of *Cucurbitaceae* (Pitrat M, ed), INRA, Avignon (France): 2008.
- [5] Leppik EE. Searching gene centers of the genus *Cucumis* through host-parasite relationship. *Euphytica*; 1966;15: p. 323-338.
- [6] Bates DM, Robinson RW. Cucumbers, melons and watermelons (*Cucumis* and *Citrullus* (*Cucurbitaceae*)). 22nd Edn. Longman Scientific, Harlow, Essex, UK: 1995. p. 89-96.
- [7] De Candolle A. Origin of cultivated plants (2 ed.), Hafner Publishing Co. USA: 1967.
- [8] Zhang YX, Lespinasse Y, Chevreau E. Induction of haploid in fruit trees. In: *In vitro* Culture and Horticultural Breeding. (eds: Janicks J, Zimmerman RH). *Acta Horticulturae*. 1990;280: 293-305.
- Xue GR, Yu WY, Fei KW. Watermelon plants derived by *in vitro* anther culture. *Plant Physiology Commun*. 1983;4:40-42.
- [9] Xue GR, Yu WY, Fei KW. Watermelon plants derived by *in vitro* anther culture. *Plant Physiology Commun*. 1983;4:40-42.
- [10] Chambonnet D, Dumas de Vault R. Obtention of embryos and plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo*. *Cucurbit Genetics Coop Rep*. 1985;8: 66.
- [11] Sauton A, Dumas de Vault, R. Production of haploid plants in melon (*Cucumis melo* L.) as a result of gynogenesis induced by irradiated pollen. *Agronomie*. 1987;7(2):141-147.
- [12] Sauton A. Haploid gynogenesis in *Cucumis sativus* induced by irradiated pollen. *Cucurbit Genetics Coop*. 1989;12:22-23.
- [13] Niemirowicz-Szczytt K, Dumas de Vault R. Preliminary data on haploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) induction. *Cucurbit Genet Coop*. 1989;12:2425.
- [14] Gałazka J, Słomnicka R, Góral-Radziszewska K, Niemirowicz-Szczytt K. From pollination to DH lines verification and optimization of protocol for production of doubled haploids in cucumber. *Acta Sci Pol Hortorum Cultur*. 2015;14(3):81-92.
- [15] Moqbeli E, Peyvast G, Hamidoghli Y, Olfati J. *In vitro* cucumber haploid line generation in several new cultivars. *As Pac J Mol Biol Biotechnol*, 2013;21(1):18-25.
- [16] Çetinkaya E. Farklı besi ortamı kombinasyonlarının bazı hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotiplerinde gynogenesis yolu ile embriyo ve haploid bitki oluşumu üzerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 58 s, Antalya; 2015.
- [17] Erol MH. Hıyarlarda ovül-ovaryum kültürleri ve ışınlanmış polen tekniği ile spermidin ve putresin uygulamalarının haploid embriyo uyartımına etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 99 s, Adana; 2018.
- [18] Toprak S. ZYMV dayanımlı farklı hıyar tiplerinin double haploid etkinliğinin belirlenmesi ve ovül kültürünün optimizasyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 59 s, Kayseri; 2019.
- [19] Baktemur G. Kavunda (*Cucumis melo* var. *inodorus*) ışınlanmış polenle uyartılmış haploid embriyoların ayrılmasında kullanılabilecek farklı yöntemler. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 61 s, Adana; 2009.
- [20] Çağlar G, Abak K. Progress in the production of haploid embryos, plants and doubled haploids in cucumber (*C. sativus* L.) by gamma irradiated pollen, in Turkey. In *Ist International Symposium on Cucurbits*; 1997;492: p. 317-322.
- [21] Lotfi M, Kashi A, Onsjnejad R. Induction of parthenogenetic embryos by irradiated pollen in cucumber. *First International Symposium on Cucurbits*, 1997;492: p. 323-328.



***Phillyrea latifolia* L. :Biological Properties Screening of Different Extracts**

Sengul UYSAL^{1,2*}

¹ Erciyes University Halil Bayraktar Health Services Vocational College, Kayseri, Turkey

² Ziya Eren Drug Application and Research Center, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Sengul UYSAL ORCID No: 0000-0003-4562-1719

*Sorumlu yazar: senguluysal@erciyes.edu.tr

(Alınış: 11.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Keywords

Cholinesterase,
Diabetes,
Phillyrea,
Polyphenols,
Tyrosinase

Abstract: *Phillyrea latifolia* L. is widely used as astringent, diuretic and hypoglycaemic in Mediterranean traditional medicine. This work focused on the biological properties (antioxidant and enzyme inhibitory) of *P. latifolia* L. leaves extracts, obtained by different solvents (ethyl acetate, methanol and aqueous). The amount of phenolics and flavonoids in *P. latifolia* L. extracts was also assessed by spectrophotometric methods. The methanol extract showed the highest total flavonoid content (68.07 mg RE g⁻¹). The ethyl acetate extract exhibited stronger DPPH radical scavenging activity (190.71 mg TE g⁻¹). The best CUPRAC activity was shown by the methanol extract (609.38 mg TE g⁻¹). The aqueous extract (14.83 mg EDTA g⁻¹) displayed the highest activity in metal chelating assay. Results showed that ethyl acetate extract indicated the highest activity in enzyme inhibition tests. Considering the obtained data, *P. latifolia* L. has potential to be used as sources of natural antioxidant and enzyme inhibitor

***Phillyrea latifolia* L: Farklı Ekstraktlarının Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi**

Anahtar Kelimeler

Diyabet,
Phillyrea,
Polifenoller,
Kolinesteraz,
Tirozinaz

Öz: *Phillyrea latifolia* Akdeniz geleneksel tıbbında kanamayı durdurucu, diüretik ve hipoglisemik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışma farklı çözücülerle (etil asetat, metanol ve su) elde edilen *P. latifolia* L. yapraklarının biyolojik özellikleri (antioksidan ve enzim inhibitör) üzerine odaklanmıştır. Ayrıca, *P. latifolia* L. ekstraktlarındaki fenoliklerin ve flavonoidlerin miktarı spektrofotometrik yöntemlerle değerlendirildi. Metanol ekstrak yüksek toplam flavonoid içerik gösterdi (68.07 mg RE g⁻¹). Etil asetat ekstraktı güçlü radikal süpürme aktivitesi sergiledi (190.71 mg TE g⁻¹). En iyi CUPRAC aktivitesi metanol ekstraktı tarafından gösterilmiştir (609.38 mg TE g⁻¹). Su ekstraktı (14.83 mg EDTA g⁻¹) metal şelatlama deneyinde yüksek aktivite sergiledi. Sonuçlar etil asetat ekstraktı enzim inhibitör testlerinde yüksek aktivite gösterdi. Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, *P. latifolia* L. yaprakları umut verici bir doğal antioksidan kaynağıdır ve bulaşıcı olmayan hastalıkların tedavisi için sağlıklı yararlar sağlayabilir.

1. INTRODUCTION

In the past decades, the demand for natural products increased due to their potential health benefits against disease [1]. These therapeutic potentials of natural products are due to the presence of bioactive compounds especially phenolic compounds [2]. Many different studies have performed the biological activities including antioxidant and the inhibition of metabolic enzymes of natural products or bioactive compounds and their can reduce the risk of non-communicable including Alzheimer's and diabetes [3-5] Herein, natural products have been considered as a significant source for the development of new drugs [6,7].

Alzheimer's disease (AD) is neurodegenerative disorder, which is characterized by the progressive decline of memory and the progressive loss of cholinergic neurons [8,9]. However, there is no effective treatment for AD yet. The most prescribed drug for the symptomatic treatment of AD is cholinesterase inhibitors [10]. Diabetes mellitus (DM) is a major chronic non-communicable and metabolic disease with hyperglycaemia [11-13]. In 2017 there were just over 451 million were diabetes and this figure is expected to rise to 693 million by 2045 [14]. At present, the most know therapeutic approaches for treatment of DM is inhibition of the α -amylase and α -glucosidase enzymes that are involved in digestion of carbohydrates [15].

Despite the current treatment strategy for abovementioned diseases is enzyme inhibitory (galanthamine for AD, acarbose and miglitol for DM, and kojic for skin disorders). It should be noted that the most commonly used drugs are limited by side effects (e.g., hepatotoxicity, gastrointestinal disturbances, diarrhea) [16-18]. Thus, screening phytochemical profile and pharmaceutical properties from plant for the discovery of new safe and effective drugs have gained considerable attentions.

Phillyrea latifolia L. is a Mediterranean maquis of the Oleaceae family [19]. This plant is used in Spanish folk medicine for the treat of ulcers, mouth inflammation, and as astringent, and diuretic agent [20]. Moreover, decoction and infusion of *P. latifolia* leaves are used for the treatment of kidney stones and as hypoglycaemic in Turkey [21]. Previous data on *P. latifolia* leaves have revealed the presence of iridoids, triterpenoid compounds, flavonoid glycosides, lignan, and phenylpropanoid [20,22,23]. Extracts and isolated compounds have indicated to possess anti-inflammatory and antibacterial activity [20,23,24].

Based on our literature search, there is very little knowledge on phytochemical profile and biological properties of *P. latifolia* leaves. In this regard, the present study has attempted to investigate the antioxidant capacity and enzyme inhibitory effect as well as total bioactive compounds of *P. latifolia* leaves. After a thorough review, this is the first report to on the antioxidant potential and enzyme inhibitory effect of *P. latifolia* leaves.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant Materials

The leaves of *Phillyrea latifolia* L. were collected in 2018 at Silifke, Mersin, Turkey. Plant material was identified by Dr. botanist Evren Yıldıztuğay from the Selçuk University. The leaves were dried at room temperature. Then, the dried leaves were grounded in a laboratory mill prior to extraction.

2.2. Preparation of Extraction

The dried materials (5 g) were macerated with ethyl acetate and methanol (100 mL) for 24 h at room temperature. Ethyl acetate and methanol extracts were evaporated by evaporation in vacuum at 40 °C. To aqueous extract, powdered material (5 g) was boiled with distilled water for 30 min. The aqueous extract was lyophilized. All samples were stored in a refrigerator for further analysis. The yield of the ethyl acetate, methanol, and aqueous extract was 7.75 %, 16.16%, and 30.37 %, respectively.

2.3. Total Polyphenols and Flavonoids

The phenols (TP) and flavonoids (TF) were evaluated by Folin-Ciocalteu and AlCl_3 methods, respectively [25]. The results were expressed as gallic acid equivalents for

TP. The results were expressed as rutin equivalents for TF.

2.4. Biological Activities

The procedures of antioxidant capacity and enzyme inhibitory assays were given, described in our previously study [25].

2.4.1. *In vitro* antioxidant assays

Antioxidant capacity of *P. latifolia* leaves were assessed using different *in vitro* assays. The antioxidant results were expressed by using appropriate standard components: trolox for DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, phosphomolybdenum; ethylenediaminetetraacetic acid for metal chelating.

2.4.2. *In vitro* enzyme inhibitory assays

The enzyme inhibitory potential of the extracts obtained from *P. latifolia* leaves were evaluated against cholinesterase, α -amylase, α -glucosidase and tyrosinase. The enzyme inhibition results were expressed by using appropriate standard components: galantamine for cholinesterase, kojic acid for tyrosinase, acarbose for amylase and glucosidase.

2.5. Statistical Analysis

One-way ANOVA and Tukey's post-hoc test with the confidence level of 95 % were done to assess the difference among samples for each evaluated biological activities. All statistical analysis were performed using R software v.3.6.2.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Polyphenols are significant compounds found in plants and they possess potential health effects with high antioxidant properties [26]. The total phenols (TP) and total flavonoids (TF) were assessed by using colorimetric assays and the results are shown in Figure 1 and 2. The ethyl acetate extract exhibited the highest TP (111.37 mg GAE g^{-1}), followed by aqueous (106.71 mg GAE g^{-1}), and methanol (95.26 mg GAE g^{-1}). The TF of different extract was ranged from 35.13-68.07 mg RE g^{-1} . Flavonoids are important group of phenolic compounds and possess multiple health-promoting effects [27]. The results obtained in this work indicated that the phenolic and flavonoids contents of *P. latifolia* leaves are strongly affected by the different solvent employed. As can be seen on Figure 2, methanol is suitable solvent for extracting total flavonoid content from *P. latifolia* leaves. According to Ayrancı and Erkan [28], the methanol extract of *P. latifolia* fruit contained a high level TP (1652.9 mg GAE 100 g^{-1} fresh weight).

Many mechanisms have been suggested for the evaluation of antioxidant capacity *in vitro*. To this end several assays such as ABTS, DPPH, FRAP, CUPRAC, metal chelating and phosphomolybdenum are commonly employed to assess the antioxidant capacity of plants.

Table 1 shows the total antioxidant properties of tested extracts. In DPPH assay, the ethyl acetate and methanol extract (190.71 and 184.77 mg TE g⁻¹, respectively) exhibited high scavenging activity. Nevertheless, aqueous extract (158.04 mg TE g⁻¹) showed weak scavenging activity. Unlike the DPPH assay, the aqueous extract (347.40 mg TE g⁻¹) showed higher ABTS radical scavenging activity compared to the other extracts. In the previously study, the methanol extract of *P. latifolia* fruits showed DPPH (IC₅₀: 69.4 µg ml⁻¹) and ABTS (1.8 mMTE g⁻¹) radical scavenging activity [28]. These values are not comparable to the our results because of values were given in various units.

In the CUPRAC and FRAP tests, all extracts displayed similar activity. In CUPRAC assay, reducing power activity of extracts was in the range from 575.59 to 609.38 mg TE g⁻¹. The FRAP activity of extracts was in the range from 356.72 to 399.09 mg TE g⁻¹. As for phosphomolybdenum assay, the highest total antioxidant activity was determined in ethyl acetate (5.62 mmol TE g⁻¹), followed by methanol (3.93 mmol TE g⁻¹) and aqueous (3.34 mmol TE g⁻¹). The methanol and aqueous extracts showed metal chelating activity, whereas, ethyl acetate extract did not show any metal chelating activity. To the best of our knowledge, study on antioxidant capacity of *P. latifolia* leaves has not presented in literature.

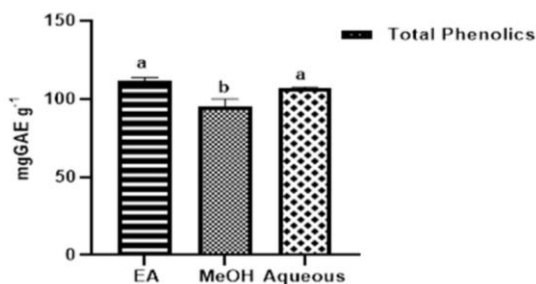


Figure 1. Total phenolic content of *P. latifolia*, GAE: gallic acid equivalents, For each solvent, values in the same column bearing different letters are significantly different at p < 0.05

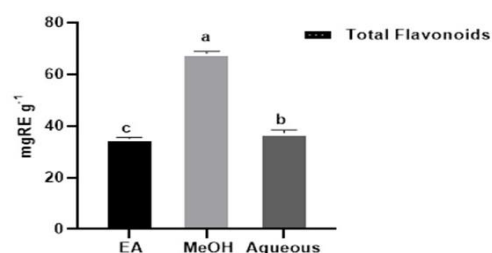


Figure 2. Total flavonoid content of *P. latifolia* RE: rutin equivalents, For each solvent, values in the same column bearing different letters are significantly different at p < 0.05

Enzyme inhibitors have long been an attractive strategy for the treatment of non-communicable including Alzheimer's and diabetes. The effect of *P. latifolia* on cholinesterase, α -amylase, α -glucosidase and tyrosinase are displayed in Table 2. The results concluded that all extracts of *P. latifolia* possess anti-cholinesterase, anti-diabetic and anti-tyrosinase activities. In tyrosinase assay, the methanol extract (231.70 mg KAE g⁻¹) showed the highest inhibitory activity, followed by ethyl acetate (214.61 mg KAE g⁻¹) and aqueous (26.18 mg KAE g⁻¹). Tyrosinase plays a crucial role in the biosynthesis of melanin [29]. Nevertheless, an abnormal high level of tyrosinase is associated with several skin diseases such as albinism and skin hyperpigmentation [30]. Hence, the inhibition of tyrosinase may be helpful in cosmetic and pharmaceutical applications.

The ethyl acetate extract exhibited the highest inhibitory effect for all tested enzymes (except tyrosinase). However, aqueous extract exhibited very low enzyme inhibitory effect. For example, the activity of methanol extract was about 9 times of aqueous extract in tyrosinase assay. In the light of the results obtained, the enzyme inhibitory effect of studied extracts was related to total phenolic content. This result is in agreement with previous studies [31,32]. No study on the cholinesterase, α -amylase, α -glucosidase and tyrosinase inhibitory effect of *P. latifolia* leaves has been carried out.

Table 1. Total antioxidant capacity of *P. latifolia*

Assays	EA	MeOH	Aqueous
DPPH assay (mgTE g ⁻¹ extract)	190.71±8.73 ^{a*}	184.77±10.03 ^a	158.04±5.29 ^b
ABTS assay (mgTE g ⁻¹ extract)	256.77±52.95 ^b	278.64±24.21 ^{ab}	347.40±20.98 ^a
CUPRAC assay (mgTE g ⁻¹ extract)	599.41±21.36 ^a	609.38±4.67 ^a	575.59±19.97 ^a
FRAP assay (mgTE/g ⁻¹ extract)	356.72±5.65 ^a	357.05±5.55 ^a	399.09±6.65 ^a
Phosphomolybdenum (mmolTE g ⁻¹ extract)	5.62±0.29 ^a	3.93±0.24 ^b	3.34±0.06 ^c
Metal chelating activity (mgEDTAE g ⁻¹ extract)	na	11.55±1.01 ^b	14.83±0.98 ^a

*Values expressed are means ± S.D., TE: Trolox equivalent; EDTAE: EDTA equivalent, na: not activity; For each solvent, values in the same column bearing different letters are significantly different at p < 0.05.

Table 2. Enzyme inhibitory effect of *P. latifolia*

Assays	EA	MeOH	Aqueous
Acetylcholinesterase (mgGALAE g ⁻¹ extract)	4.01±0.07 ^{*a}	3.49±0.09 ^b	1.51±0.24 ^c
Butyrylcholinesterase (mgGALAE g ⁻¹ extract)	3.95±0.22 ^a	2.68±0.18 ^b	0.71±0.19 ^c
α-Amylase (mmolACE g ⁻¹ extract)	0.43±0.04 ^a	0.35±0.02 ^b	0.09±0.01 ^c
α-Glucosidase (mmolACE g ⁻¹ extract)	1.73±0.08 ^a	1.71±0.01 ^a	0.68±0.09 ^b
Tyrosinase (mgKAE g ⁻¹ extract)	214.61±0.72 ^b	231.70±1.74 ^a	26.18±2.96 ^c

*Values expressed are means ±SD, GALAE: galanthamine equivalents; ACE: acarbose equivalents, KAE: kojic acid equivalents. For each solvent, values in the same column bearing different letters are significantly different at $p < 0.05$.

4. CONCLUSION

In brief, the biological properties (antioxidant capacity and enzyme inhibitory effect) of *P. latifolia* leaves were assessed in vitro. This is first report on the study of antioxidant and enzyme inhibitory effect of *P. latifolia* leaves. The results showed that extracts of *P. latifolia* leaves have potent antioxidant and enzyme inhibitory effect. Thus, *P. latifolia* could be used natural antioxidant and enzyme inhibitory. Further studies especially identification of the compounds responsible for biological activity is also important.

KAYNAKLAR

- [1] Kwan I, Embuscado ME. Spices and herbs: natural sources of antioxidants - A mini review. *J Funct Foods*. 2015; 18(B): 811-819.
- [2] Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – a review. *Food Chem*. 2016; 206: 1-11.
- [3] Teinkela, JEM, Noundou XS, Mimba JEZ, Meyer F, Tabouguia OM, Nguedia JCA, et al. Compounds isolation and biological activities of *Piptadeniastrum africanum* (hook. f.) Brennan (Fabaceae) roots. *J Ethnopharmacol*. 2020; 255 (12): 112716.
- [4] Zengin G, Cvetanović A, Gašić U, Stupar A, Bulut G, Senkardes I, et al. Chemical composition and bio-functional perspectives of *Erica arborea* L. extracts obtained by different extraction techniques: Innovative insights. *Ind Crops Prod*. 2019; 142: 111843.
- [5] Bastías-Montes JM, Monterrosa K, Muñoz-Fariña O, García O, Acuña-Nelson SM, Vidal-San Martín C, et al. Chemoprotective and antiobesity effects of tocols from seed oil of Maqui-berry: Their antioxidative and digestive enzyme inhibition potential. *Food Chem Toxicol* 2020; 136: 111036.
- [6] Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014, *J Nat Prod*. 2016; 79(3): 629–61.
- [7] Niedermeyer TH. Anti-infective natural products from cyanobacteria. *Planta Med*. 2015; 81 (15): 1309–25.
- [8] Dong S, Duan Y, Hu Y, Zhao Z. Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a re-evaluation of amyloid cascade hypothesis. *Transl Neurodegener*. 2012; 1(1): 18.
- [9] Kepp, KP. Bioinorganic chemistry of Alzheimer's disease. *Chem Rev*. 2012;112(10): 5193–239.
- [10] Rahman A, Choudhary MI. Drug design and discovery in Alzheimer's disease. 1 st ed. Elsevier, 2015
- [11] Maresch CC, Stute DC, Alves MG, Oliveira, PF, de Kretser DM, Linn T. Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2018; 24(1): 86–105.
- [12] Omolaoye TS, Skosana BT, du Plessis SS. Diabetes mellitus- induction: effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters, *Acta Histochem*. 2018; 120(2): 103–9.
- [13] Li ZM, Liu N, Jiang YP, Yang JM, Zheng J, Sun M, et al. Vitexin alleviates streptozotocin-induced sexual dysfunction and fertility impairments in male mice via modulating the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. *Chem Biol Interact*. 2019; 297: 119–29.
- [14] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, Da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045, *Diabetes Res Clin Pract*. 2018; 138: 271–281
- [15] Buchholz T, Melzig MF. Medicinal plants traditionally used for treatment of obesity and diabetes mellitus – screening for pancreatic lipase and α-amylase inhibition. *Phytother Res*. 2016; 30(2): 260–6.
- [16] Maelicke A, Samochocki M, Jostock R, Fehrenbacher A, Ludwig J, Albuquerque EX, Zerlin, M. Allosteric sensitization of nicotinic receptors by galantamine, a new treatment strategy for Alzheimer's disease. *Biol Psychiat*. 2001; 49(3): 279-288.
- [17] Kim YJ, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell Mol Life Sci*. 2005; 62(15): 1707-23.
- [18] Etxeberria U, de la Garza AL, Campion J, Martínez JA, Milagro FI. Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert Opin Ther Tar*. 2012; 16(3): 269-97.

- [19] Pieroni A, Pachaly P, Huang Y, Van Poel B, Vlietinck AJ. Studies on anti-complementary activity of extracts and isolated flavones from *Ligustrum vulgare* and *Phillyrea latifolia* leaves (Oleaceae). *J Ethnopharmacol.* 2000; 70(3): 213-217.
- [20] Diaz AM, Abad MJ, Fernandez L, Recuero C, Villaescusa L, Silvan AM, et al. *In vitro* anti-inflammatory activity of iridoids and triterpenoid compounds isolated from *Phillyrea latifolia* L. *Biol Pharm Bull.* 2000; 23(11): 1307-13.
- [21] Tuzlacı E, Aymaz PE. Turkish folk medicinal plants, part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia.* 2001; 72(4): 323-343.
- [22] Agati G, Galardi C, Gravano E, Romani A, Tattini M. Flavonoid distribution in tissues of *Phillyrea latifolia* L. leaves as estimated by microspectrofluorometry and multispectral fluorescence microimaging. *Photochem Photobiol.* 2002; 76(3): 350-360.
- [23] Diaz-Lanza AM, Abad-Martinez MJ, Fernandez-Matellano L, Recuero Carretero C, Villaescusa Castillo L, Silvan Sen AM, et al. Lignan and phenylpropanoid glycosides from *Phillyrea latifolia* and their *in vitro* antiinflammatory activity. *Planta Med.* 2001; 67(3): 219-223.
- [24] Hussain H, Tobji RS. Antibacterial Screening of Some Libyan Medicinal Plants. *Fitoterapia.* 1997; 68(5): 467-70.
- [25] Grochowski DM, Uysal S, Zengin G, Tomczyk M. *In vitro* antioxidant and enzyme inhibitory properties of *Rubus caesius* L. *Int J Environ Health Res.* 2019; 29(3): 237-245.
- [26] Rutkowska M, Olszewska MA, Kolodziejczyk-Czepas J, Nowak P, Owczarek A. *Sorbus domestica* leaf extracts and their activity markers: antioxidant potential and synergy effects in scavenging assays of multiple oxidants. *Molecules.* 2019; 24(12): 2289.
- [27] Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* 2016; Dec 29(5):e47.
- [28] Ayranci E, Erkan N. Radical scavenging capacity of methanolic *Phillyrea latifolia* L. extract: anthocyanin and phenolic acids composition of fruits. *Molecules.* 2013;18(2): 1798-810.
- [29] Chai WM, Huang Q, Lin MZ, Ou-Yang C, Huang WY, Wang YX, et al. Condensed tannins from Longan Bark as inhibitor of tyrosinase: structure, activity, and mechanism. *J Agric Food Chem.* 2018; 66(4): 908-917.
- [30] Oetting WS, King RA. Molecular basis of oculocutaneous albinism. *J Invest Dermatol.* 1994; 103(5): 131-36.
- [31] Rajasekhar A, Peddanna K, Vedesree N, Munirajeswari P, Nagaraju N, Badri KR, et al. Antidiabetic activity of root tubers of *Asparagus gonocladus* Baker in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2019; Oct 5(242): 112027.
- [32] Jung M, Park M, Lee HC, Kang YH, Kang ES, Kim SK. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Curr Med Chem.* 2006; 13(10): 1203-18.



The Impact of Artificial Lightweight Aggregate on the Engineering Features of Geopolymer Mortar

Kasım MERMERDAŞ^{1*}, Süleyman İPEK², Nadhim Hamah SOR^{1,3},
 Esameddin Saed MULAPEER¹, Şevin EKMEK¹

¹Harran University, Engineering Faculty, Civil Engineering Department, Şanlıurfa, Turkey

²Bingöl University, Engineering-Architecture Faculty, Architecture Department, Bingöl, Turkey

³University of Garmian, Engineering Faculty, Department of Civil Engineering, Sulaymaniyah, Iraq

Kasım MERMERDAŞ ORCID No: 0000-0002-1274-6016

Süleyman İPEK ORCID No: 0000-0001-8891-949X

Nadhim Hamah SOR ORCID No: 0000-0001-7349-5540

Esameddin Saed MULAPEER ORCID No: 0000-0001-8396-3440

Şevin EKMEK ORCID No: 0000-0002-2577-696X

*Sorumlu yazar: kasim.mermerdas@harran.edu.tr

(Alınış: 12.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Keywords

Cold bonding
 pelletization,
 Compressive
 strength,
 Geopolymer
 mortar,
 Artificial
 lightweight
 aggregate,
 Workability

Abstract: In this study, a research on the effectiveness of artificial lightweight aggregate (A-LWA) on the fresh and hardened properties of geopolymer mortars is presented. The main aim of this study is to propose a relatively newer means of recycling of fly ash (FA) through geopolymer mortar production. Therefore, firstly, artificial lightweight aggregate (A-LWA) was produced through the cold-bonding pelletization process of FA. Then, FA based geopolymer mortars were produced with this aggregate. The geopolymer mortars manufactured in this study had constant source material and alkaline activator quantities of 600 and 300 kg m⁻³, respectively. The proportion of Na₂SiO₃-to-NaOH was 2.5 and the molarity of NaOH was 12 M. The A-LWA sand was replaced partially with river sand up to 100%. The compressive strength, ultrasonic pulse velocity, fresh and dry densities of the geopolymer composites were measured at the age of 7 days and the flow table test was conducted to indicate the consistency of the geopolymer mixtures. The results indicated the A-LWA utilization enhanced the workability of the geopolymer mixtures and the highest increase of flow diameter of 20% was obtained using 100% A-LWA. Compressive strength values of geopolymer mortars varied between 4.28 and 32.3 MPa. A systematical decrease in the compressive strength and revealed with respect to the increasing level of A-LWA due to the softness and weakness of the A-LWA particles. Ultrasonic pulse velocity results of geopolymer mortars ranged from 1479 to 2596 m s⁻¹ with related the replacement level of A-LWA.

Yapay Hafif Agreganın Geopolimer Harcın Mühendislik Özellikleri Üzerindeki Etkisi

Anahtar Kelimeler

Soğuk
 bağlamayla
 peletleme,
 Basınç dayanımı,
 Geopolimer harc,
 Yapay hafif
 agrega,
 İşlenebilirlik

Öz: Bu çalışmada, yapay hafif agreganın (YHA) geopolimer harçların taze ve sertleşmiş özellikleri üzerindeki etkisi üzerine bir araştırma sunulmaktadır. Bu çalışmanın ana amacı, geopolimer harç üretimi yoluyla uçucu külün (UK) geri dönüşümü için nispeten daha yeni bir alternatif önermektir. Bundan dolayı, UK kullanılarak soğuk bağlama yöntemiyle YHA üretilmiştir. Sonra bu agregalar ile UK esaslı geopolimer harçlar üretilmiştir. Bu çalışmada üretilen geopolimer harçlar, sabit miktarda 600 kg m⁻³ UK ve 300 kg m⁻³ alkali aktivatör miktarları kullanılarak üretilmiştir. Na₂SiO₃/NaOH oranı 2.5 ve NaOH molaritesi 12 M olarak alınmıştır. YHA, dere kumuyla hacimce %100'e kadar kısmi olarak yer değiştirilerek kullanılmıştır. Geopolimer harçların basınç dayanımı, ultrasonik dalga hızı, taze ve kuru birim ağırlıkları 7 günlük süre sonunda ölçülmüştür. Taze karışımların kıvamını belirlemek için geopolimer harçlarda akış tablası deneyi yapılmıştır. Sonuçlar YHA kullanımının geopolimer karışımlarının işlenebilirliğini artırdığını ve % 20'lik en yüksek akış çapı değerinin % 100 YHA kullanılarak elde edildiğini göstermiştir. Geopolimer harçların basınç dayanımı değerleri 4.28-32.3 MPa arasında değişen değerler elde edilmiştir. YHA parçacıklarının boşluklu ve zayıf yapısı nedeniyle YHA artış miktarına bağlı olarak basınç dayanımında sistematik

bir azalma görülmüştür. Geopolimer harçların ultrasonik ses geçiş hızı sonuçları, YHA'nın ikame seviyesi ile ilişkili olarak 1479 ile 2596 m s⁻¹ arasında değişen değerler elde edilmiştir.

1. INTRODUCTION

The production of ordinary portland cement causes some environmental problems such as global warming related to higher CO₂ gas emission in the atmosphere. The cement production amount in the earth is annually 4000 million tons and the research demonstrates that the production of OPC is responsible for about 7-8% of total CO₂ in the atmosphere. To eliminate this undesirable issue, it is taken into consideration to search alternative binder materials such as geopolymers [1,2]. The geopolymer concrete has been considered as a good substitute for conventional concrete since geopolymer concrete does not contain any cement. The geopolymer can be produced by polymerization of aluminosilicate with the solution of alkaline that has many desirable properties compared with conventional binders with respect to the features of durability, thermal conductivity, and mechanical performance [3,4]. Flexural and tensile strength values of geopolymers are lower compared compressive strength results similar to the other cement-based products [5,6].

Generally, the geopolymers are produced by activating the mineral admixtures like metakaolin or other waste materials obtained from the industrial byproduct such as slag and FA [7]. Conversely, the important characteristics of geopolymer materials such as low cost, fire resistance, being environmentally friendly, and good thermal properties lead to utilization of them in the different applications [8]. The use of alkali activators in the experimental studies has become the engaging attention of the researchers, especially, those related to the manufacture of geopolymers and focused on industrial wastes.

Although, there have been studies taking fly ash (FA) into account as supplementary cementing material in special concrete applications such as self-compacting concrete, still, sustainable options for utilization of FA is required. Generally, fly ash is a popular material employed as a base ingredient for geopolymer manufacturing since it is the most available by-product material to be used for this purpose throughout the world [9,10]. Many researchers across the world have exposed excellent outcomes and durability aspects of the FA-based geopolymers [11-14]. Indeed, geopolymers need longer heat curing that leads to restricting the application of geopolymer on site. However, the strength of geopolymer can be even more than the cement-based concrete thanks to an elevated temperature curing 40 – 80 °C for about a minimum of 6 hours [15,16].

There are also many studies focusing on the properties of fly ash-based geopolymer mortars considering various parameters [17-21]. Rossi et al. [22] studied the impact of construction and demolition waste replacement by sand on the fresh and hardened properties of geopolymer mortar. The fly ash and metakaolin was utilized as a

binder in the study. The results demonstrated that while the usage of construction and demolition waste decreased the flowability, the compressive and flexural strength results increased related to the strong interface between aggregate and geopolymer matrix. Wongsa et al. [23] investigated the utilization of crumb rubber replacing with river sand in the production of geopolymer mortar. According to their results it was obtained that using crumb rubber resulted in a significant decrease of compressive strength values. However, it was noticed that the density and thermal conductivity values, reduced by 42% and 79%, respectively, when compared with the mortar without crumb rubber. Kaur et al. [24] searched the effects of the sodium hydroxide molarity on the features of geopolymer mortar considering sodium silicate/sodium hydroxide ratio of 2. Three different SH molarities of 12 M, 14 M, and 16 M were used and the compressive strength results were attained at the age of 3, 7, 14, and 28 days. The highest compressive strength value was achieved with SH molarity of 16 M. The increase of SH molarity and age led to the development of strength results for all mixtures. Vaibhav et al. [25] focused on the influence of using silica fume by replacing the fly ash on the geopolymer mortar produced by various substitution levels of recycle aggregate with M-sand. It was concluded that The effect of silica fume on the compressive strength result is negative due to higher water absorption. The optimum replacement level of recycle aggregate with M-sand was determined as a 50% substitution.

Additionally, the use of A-LWA in the geopolymer mortar mixtures conduce toward reducing the self-weight of the geopolymer mortar, which leads to achieving more beneficial, sustainable, and applicable geopolymer mortar. Therewithal, reducing the dead weight of the buildings can be achieved by using the natural or artificial lightweight aggregate in the mortar production that would also result in reducing the required steel amount in the reinforced mortar structural members [26]. At the temperature of more than 100 ° C, the geopolymer mortar containing lightweight aggregate has more resistance against the fire than that involving normal weight aggregate [27]. Lightweight aggregate that was obtained from the recycled industrial wastes or the natural sources can be employed in the lightweight mortar production. In Turkey, like other industrial countries, a huge amount of fly ash (an average of 15 million tons) as waste material has been annually produced and this creates an environmental problem by contaminating the air and water on a great domain. Besides, only a little quantity (approximately 1%) of this waste material has been utilized in the construction industry [28,29]. Growing demand for using lightweight mortar also causes a requirement for lightweight aggregate, which can be natural or artificial. There are three common methods for the production of A-LWAs by utilizing the waste materials; sintering, autoclaving, and cold bonding techniques [30-33]. Among these

methods, the cold bonding pelletization needs the minimum energy consumption for the manufacturing of the aggregates, which are in the spherical particle forms attained by using a rotating disc at an inclined angle [30-32].

The unit weight of the geopolymer mortar can also be reduced like the cement-based mortar by using the lightweight aggregates in the manufacturing. Some studies have exhibited that increasing the quantity of natural lightweight aggregate or A-LWA in the mortar decreases its unit weight [34-36]. The mortar having the unit weight of less than 1920 kg m^{-3} can be taken into account as lightweight mortar, which may also have the possibility to lessen the dead load and Young's modulus, increasing the strength-to-weight ratio, improving the fire resistance, and enhancing the sound and thermal resistance [37-39]. As well as, the earthquake-resistant structures can be constructed more easily by using the lightweight mortar rather than using the normal weight mortar since the decrease in the self-weight of the structure consequently decreases the superimposed loads acting to the structure during the earthquake [40].

The use of lightweight aggregates in mortar manufacturing has an important problem encountered as high water absorption, but, this issue may easily be eliminated by providing saturated surface dry moisture conditions to the lightweight aggregate. Furthermore, it has been reported in the experimental studies in the literature that utilization of the lightweight aggregate in the saturated surface dry condition yields in a higher compressive strength of the mortar [41,42]. Besides, it has been stated that increasing the A-LWA decreases the compressive strength [35]. However, it has also been expressed that the early curing temperature influences the compressive strength of geopolymer mortar, in other words, increasing the temperature increases the compressive strength to some extent [43].

The objective of the experimental program in the current study is to determine the flow behavior, fresh and dry densities, compressive strength, and ultrasonic pulse velocity (UPV) of geopolymer mortars produced via partially replacing the normal weight fine aggregate with the fine A-LWA at six different replacement levels, namely, 0, 20, 40, 60, 80, and 100%. Thus, a total of 6 geopolymer mortar mixes were tackled at a fixed alkaline solution-to-fly ash ratio of 0.5 and the FA content of 600 kg per cubic meter. However, the mixture of Na_2SiO_3 and NaOH solution was used as an alkaline liquid by the ratio of 1/2.5. The molarity of NaOH was 12 M. The flow diameter, fresh and dry densities, compressive strength, and ultrasonic pulse velocity of the mortar specimens were determined after the 7-days of resting period.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Ingredients of the Geopolymer Mortar

2.1.1. Geopolymer binder

F type FA conforming to ASTM C311[44] standards was supplied from Çatalağzı, Turkey and used in the manufacturing of both, the artificial lightweight aggregate and geopolymer mortar as a pozzolanic material. In the manufacture of the A-LWA, the fly ash was the major compound to maintain the pelletization process with the aid of Portland cement. Whereas, in the manufacturing of the geopolymer mortar, FA was employed as the binding material in the alkaline environment. The specific gravity of FA was 2.29. Portland cement and FA have the following chemical compositions given in Table 1.

Table 1. Chemical compositions of fly ash and Portland cement

Composition, %	FA	Portland cement
CaO	2.20	62.58
SiO ₂	57.20	20.25
Al ₂ O ₃	24.20	5.31
Fe ₂ O ₃	7.10	4.04
MgO	2.40	2.82
SO ₃	0.30	2.73
Na ₂ O	0.40	0.22
K ₂ O	3.40	0.92
Others	2.8	1.13

The mix of sodium silicate (Na_2SiO_3) and 12 M of sodium hydroxide (NaOH) with a constant proportion of 2.5:1 was utilized as the alkaline activator. The NaOH solution must be firstly made by dissolving the solid sodium hydroxide crystals in the water to achieve 12 M concentration. This solution must be stored in a plastic flask at ambient temperature 22-25 °C for about one day, then, it should be used [45,46]. The Na_2SiO_3 chemical activator comprises 27.56% SiO₂ and 10.94% Na₂O oxides. The NaOH and Na_2SiO_3 used in the experimental study had the specific gravity values of 2.13 and 1.38, respectively. The properties of the two alkaline activators were presented in Table 2.

Table 2. Properties of the alkaline activators

Material	Sodium hydroxide	Sodium silicate
Physical state	solid	liquid
Colour	white	Light yellow
Mol. weight	40.00 g/mol	122.06 g/mol
Melting	323 °C	-
Storage	+5°C - +30°C	-

Besides, the commercially available superplasticizer having a specific gravity of 1.07 was used to acquire reasonable consistency in all fresh geopolymer mortar mixtures. For all geopolymer mortar mixtures, the quantity of the superplasticizer was fixed at 2% of fly ash content by mass.

2.1.2. Aggregates

The natural sand with the specific gravity of 2.64 and the fine A-LWA having the specific gravity of 1.71 was employed in the manufacturing of the geopolymer

mortars. The nominal maximum particle size of both aggregate types was 4 mm.

The experimental study in this paper was separated into two stages. In the first stage, A-LWAs were manufactured by a cold bonding agglomeration process of Portland cement and fly ash. The schematic representation of the cold-bonding process was presented in the Figure 1. For that purpose, 10% of Portland cement and 90% of FA were blended in the dry powder form, then added into the pelletizer that is exhibited in Figure 2a. The pelletization disc having a 30-cm depth and 80-cm diameter, as indicated in Figure 2b, was rotated at the inclined shape having an inclination angle of 45° and with a constant rotation rate of 42 rpm to guarantee the uniformity of the mixture. The quantity of water, which was used as the coagulant medium and sprayed on the dry powder mixture during the pelletization process to produce the sphere-shaped particles with the rotating of the pelletization disc, was about 20% of the total material weight [47-50]. The total manufacturing time was about 20 minutes and the water was sprayed on the dry mixture for the first 10 minutes of the process. During the second 10 minutes of the manufacturing process, the pelletization disc was allowed rotating to acquire the stiff and compacted sphere-formed pellets. As soon as after the fresh pellets were obtained from the cold bonding agglomeration process of Portland cement and FA, they were kept in a closed plastic bag, where the relative humidity was about 70%, for 28 days at ambient temperature in the laboratory condition.

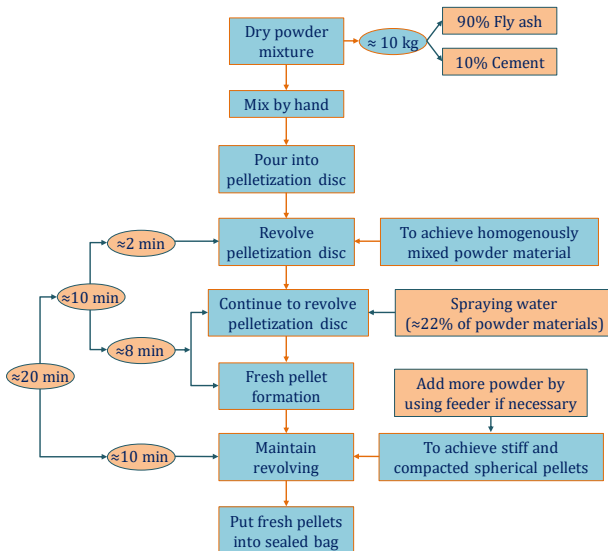
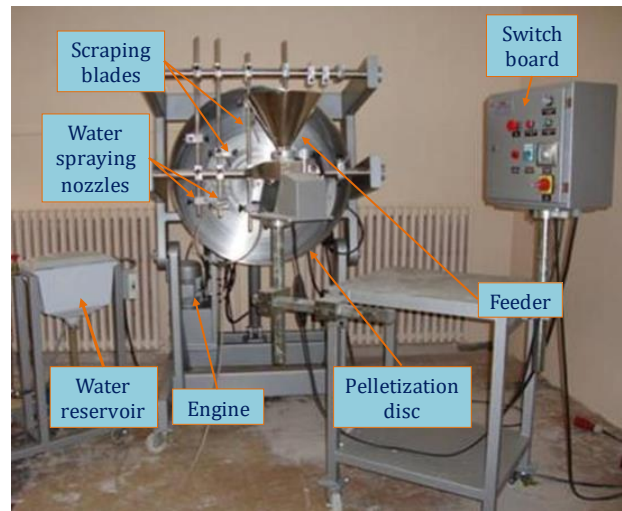
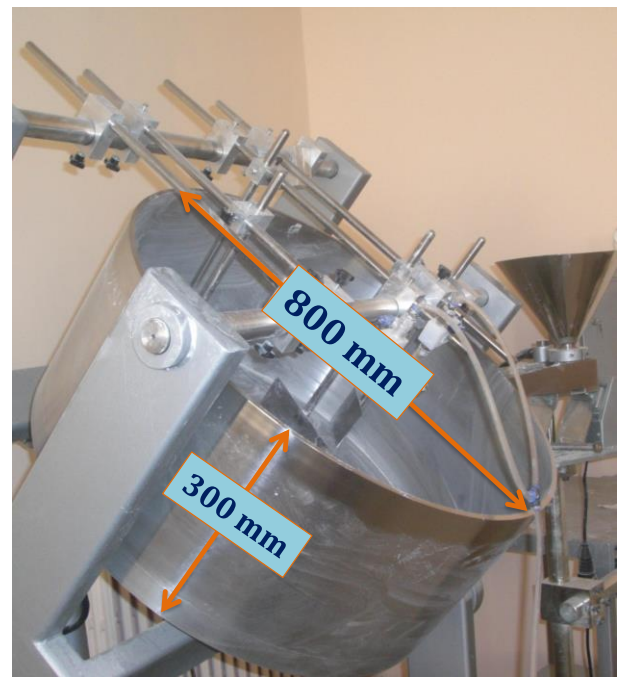


Figure 1. Cold-bonding manufacture process of A-LWA



(a)



(b)

Figure 2. Photographic images of pelletization system: (a) the broad view and (b) pelletization disc

After the self-curing period, the hardened artificial lightweight aggregates were firstly crushed to achieve the fine particles and then, sieved from the sieves having 0.25 and 4-mm mesh opening to obtain the artificial lightweight aggregate having the particle size between 0.25 and 4 mm that is demonstrated in Figure 3. After the sieving process, the water absorption and specific gravity tests were performed on the artificial lightweight fine aggregates concerning ASTM C127 [51]. The water absorption of the artificial lightweight fine aggregate measured after immersing into the water for 24 hours was calculated as 22.2%. Besides, the specific gravity of the fine A-LWA in the saturated surface dry condition was measured as 1.71.



Figure 3. A photographic view of the typical artificial lightweight fine aggregate particles after crushing

2.2. Mixture Design, Production and Specimen Preparation

In the second step of the study presented herein, the geopolymer mortar mixtures were designed and produced. The fly ash with constant content of 600 kg m^{-3} was used as a solid binding component in the geopolymer mortar production. The alkaline activator-to-solid (FA) ratio was 0.5 and alkaline activator was the

mix of NaOH solution having 12 M concentration and ready-made Na_2SiO_3 solution. The total content of alkaline activator was 300 kg m^{-3} and the ratio between sodium hydroxide and sodium silicate was designated as 1:2.5. The natural river sand was substituted with the artificial lightweight fine aggregate at the replacement levels of 0, 20, 40, 60, 80, and 100% by volume. In this way, in total, six geopolymer mortar mixtures were designed and their mixture proportions are given in Table 3.

At the beginning of the production process, the fine aggregates (natural and/or artificial) and fly ash were poured into the mortar mixer and it was rotated for about 30 seconds for obtaining the homogeneous mixture. Then, about half of the alkali activator solution was poured onto the solid materials in the mixer, and, blended for another one minute. After that, the superplasticizer was mixed with the rest of the alkali activator solution and they were added into the mixer. The production process continued with rotating the mixer for about three minutes and then, the fresh mix was permitted to rest for about two minutes. Finally, the geopolymer mortar mixture was achieved by mixing the rested mixture for an extra two minutes.

Table 3. Mixture quantities for geopolymer mortars

Mixture ID	Fly ash (kg m^{-3})	NaOH (kg m^{-3})	Na_2SiO_3 (kg m^{-3})	Natural sand (kg m^{-3})	A-LWA (kg m^{-3})	SP* (kg m^{-3})
GPM-L0	600	85.7	214.3	1353.9	0	12
GPM-L20	600	85.7	214.3	1083.1	175.4	12
GPM-L40	600	85.7	214.3	812.3	350.8	12
GPM-L60	600	85.7	214.3	541.6	526.2	12
GPM-L80	600	85.7	214.3	270.8	701.6	12
GPM-L100	600	85.7	214.3	0	877	12

*SP: superplasticizer

But before starting the production process of the geopolymer mortar involving the artificial lightweight fine aggregate, the artificial lightweight fine aggregate was put in the water for 24 hours. Afterward, it was taken out from the water and poured on the wire mesh and kept on there for about 30 seconds for the percolating of the excess water from the aggregate particles. Then, a dry towel was used to attain the artificial lightweight fine aggregate in the saturated surface dry condition. This is an important method used to achieve the saturated surface dry condition for such types of aggregate [47-49]. After this process had completed, the production process of the geopolymer mortar involving artificial lightweight fine aggregate started.

As soon as the mixing process finished, the attained fresh geopolymer mortar was cast into the molds by two layers and each layer was compacted by hand and vibration table. Three $40 \times 40 \times 160$ -mm prismatic specimens were taken from each mortar mixtures. Following, the specimens were covered with a nylon sheet and kept in the furnace having a temperature of 65°C for 24 hours. After then, the specimens were

demoulded and kept in the laboratory, in which the temperature was about $22\text{--}25^\circ\text{C}$, for 7 days.

2.3. Test Procedures

The flowability of the geopolymer mortar mixtures was evaluated through the flow table test. For this reason, ASTM C1437-07 [52] was followed to carry out the flow table test for the geopolymer mortar mixtures produced in this study. A conical mould having the bottom and top opening diameters of 70 and 100 mm, respectively, and the height of 50 mm was utilized in performing the flow table test. The fresh geopolymer mortar mixtures were poured into this conical mold at two equal layers and each layer was compacted by 20 tamps and immediately after, the top surface was finished with a trowel (see Figure 4a). The conical mold was removed after 1 minute after its filling and immediately tamped 25 times in 15 seconds to spread the geopolymer mortar on the table as indicated in Figure 4b. As a result, the average of two opposite diameters of the spread geopolymer mortar was presented as the flow table test result [52].

The flexural tensile strength was applied to 40x40x160-mm prismatic specimens. Same specimens were also used for UPV readings. After flexural test the remaining pieces were used for compressive strength testing via special test apparatus which has 40x40 mm to and bottom plates. Hence, the compressive strength test was performed on 40-mm cubic specimens in accordance with ASTM C109 [53]. The ultrasonic pulse velocity test was conducted following ASTM C597-02 [54].

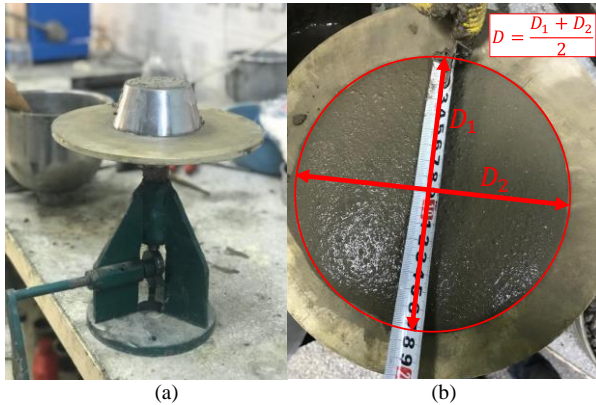


Figure 4. (a) flow table test apparatus filled with geopolymer mortar and (b) measuring the flow diameter of geopolymer mortar

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Flowability

The variation in the average flow diameter values of the geopolymer mortar mixtures in accordance with the replacement level of the fine A-LWA has been indicated in Figure 5.

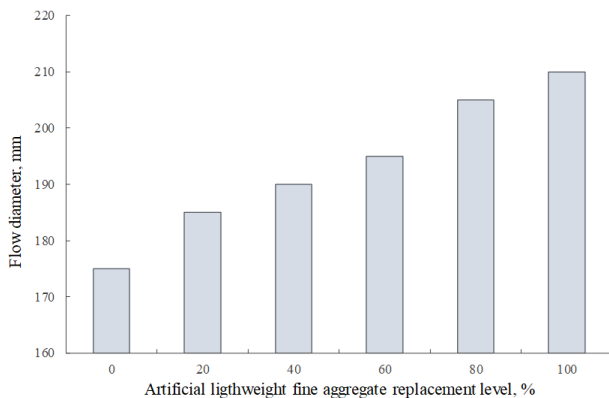


Figure 5. Variation in the flow diameter of geopolymer mortar mixtures regarding artificial lightweight fine aggregate replacement level

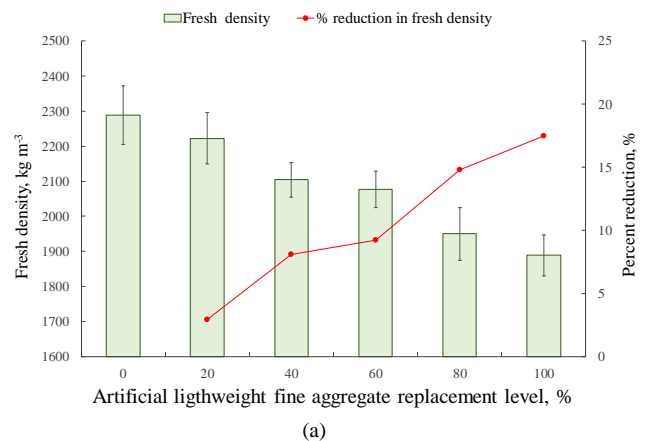
The flow diameter values ranging between 175 and 210 mm was measured in the geopolymer mortar mixtures produced in this study. The lowest flow diameter was measured in the mortar mixture involving no artificial lightweight fine aggregate whereas the highest flow diameter value was observed in the mortar mixture produced with fully artificial lightweight fine aggregate. The results illustrated that increasing the fine A-LWA content systematically resulted in the improvement of the flowability of the geopolymer mortar mixtures. The main reason for this situation is that the fine A-LWA was used in the saturated surface dry condition, so, no

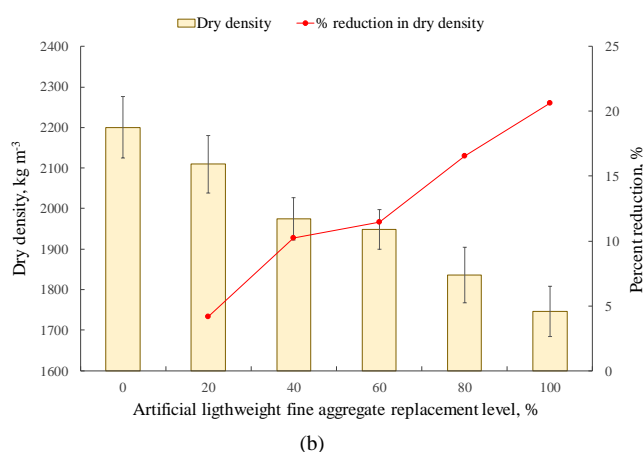
alkaline activator solution was absorbed by the A-LWA particles. For this reason, the workability of the fresh geopolymer mixtures enhanced by increasing the A-LWA content. Using 100% A-LWA in the production of the geopolymer mortar resulted in a 20% increment of the flow diameter.

Besides, during the observational investigation, almost no segregation was sought in the geopolymer mortar mixtures.

3.2. Fresh and Dry Densities

The changes in the fresh and dry densities of the geopolymer mortars regarding the artificial lightweight fine aggregate content have been illustrated in Figures 6a and 6b, respectively. Besides, in these figures, the percent reduction values in both densities by increasing the fine A-LWA content also demonstrated. The fresh density values changing between 2289 and 1889 kg m⁻³ were observed for the geopolymer mortar mixtures while the dry density values for the same mixtures were between 2201 and 1746 kg m⁻³. The results exhibited that when the mortar mixture produced with only natural fine aggregate has dried, about a 3.9% reduction in its density was observed, whereas the reduction in the density of the mortar mixture involving 100% artificial lightweight fine aggregate was about 7.5%. This might also be related to the moisture condition of the A-LWA. In the mortar production, the A-LWA was utilized in the saturated surface dry condition that means no water would be absorbed by the aggregates. Because of this, during stiffening and drying stages of the geopolymer mortars involving the artificial lightweight fine aggregate, more weight loss took place, so, a higher percentage reduction in the density was observed.





(b)

Figure 6. Change in: (a) fresh density and (b) dry density values in accordance with the volume fraction of the fine A-LWA

The results also revealed that utilizing the fine A-LWA in the production of the geopolymer mortar significantly reduced both, fresh and dry, densities. Based on the conclusions in the literature about the traditional mortar produced by the lightweight aggregate, the gradual decreases in fresh and dry densities could be observed by using lightweight aggregates in the mortar production [32,35,49]. When the percent reduction values submitted in Figures 6a and 6b were investigated, about 17.5% reduction in the fresh density and 20.7% reduction in the dry density values were achieved by producing the geopolymer mortar with fully artificial lightweight fine aggregate. Also, from these figures, it could be easily seen the gradual decrease in the density of the geopolymer mortar mixtures in conjunction with increasing the volume fraction of the artificial lightweight fine aggregate. According to TS EN 206-1 [55], the mortar having an oven-dried density between 800 and 2000 kg m⁻³ is considered as lightweight mortar. Since there is no classification for the geopolymer mortars, the given criteria can also be considered for the geopolymer mortar and mortar. Therefore, it could be expressed that all geopolymer mortar mixtures containing more than 40% artificial lightweight fine aggregate replacement level are in the lightweight mortar class since their dry densities are less than 2000 kg m⁻³. On the other hand, by ACI Committee 213R-03 [56], the upper limit of density for considering the mortar as lightweight mortar is specified as 1950 kg m⁻³ for the air-dried mortar.

3.3. Compressive Strength

The compressive strength is a significant mechanical feature of the concrete that mostly mirrors the whole hardened characteristics of concrete during the service life. The variation of compressive strength values of the geopolymer mortar mixtures with respect to the A-LWA replacement level is demonstrated in Figure 7a. The geopolymer mortar mixtures produced in this study had the compressive strength values changing between 32.3 and 4.28 MPa. The extreme compressive strength value was observed in the geopolymer mortar mixture containing 100% natural sand while the minimum value was seen in the mixture involving 100% artificial sand. The compressive strength was gradually diminished by

increasing the substitution level of the fine A-LWA and this is directly associated with the weakness of the A-LWA particles when compared with the river sand. Another reason beneath the compressive strength reduction by the A-LWA can be its softness. The A-LWA particles produce mediums softer than the hardened geopolymer matrix and during the loading, the softer medium would perform higher displacement than the geopolymer matrix that can result in the cracking occurrence in the geopolymer matrix. Therefore, an important decrease in the strength of the geopolymer mortar could be observed as the artificial lightweight aggregate content increased.

Additionally, the artificial lightweight aggregate particles manufactured with cold bonding pelletization process have smooth surfaces whereas, the natural aggregate used in the current study consists of rough particles that would increase the adherence between the geopolymer matrix and the aggregate particles [35,43,57-60]. Besides, the strength loss by employing the A-LWA is related to the porous nature of the structure of the artificial aggregate [57,61]. To illustrate the effect of the fine A-LWA amount on the compressive strength, Figure 7b, in which the relative compressive strength values are pointed out, are presented. The results indicated that about 87% reduction in the compressive strength was seen when the fine A-LWA content increased from 0% to 100% while the reduction was about 52% when the 20% of the river sand was substituted with the fine A-LWA.

Figure 8 was presented to show the relationship between the compressive strength and the dry density of the geopolymer mixtures according to the replacement level of the A-LWA content. The exponential correlation was used to evaluate the relationship between strength and density. When the coefficient of determination (R-squared) value of 0.937 given in Figure 8 was considered, it would be revealed that there is a robust relationship between the compressive strength and dry density of the geopolymer mixtures produced in this study. The similar evaluations for the relationship between the strength and density of the geopolymer mortar can be found in the literature [62].

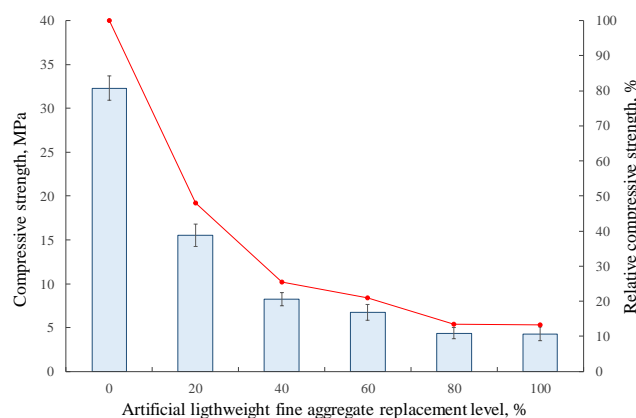


Figure 7. Compressive strength and relative compressive strength of the geopolymer mortar mixtures versus the A-LWA substitution level

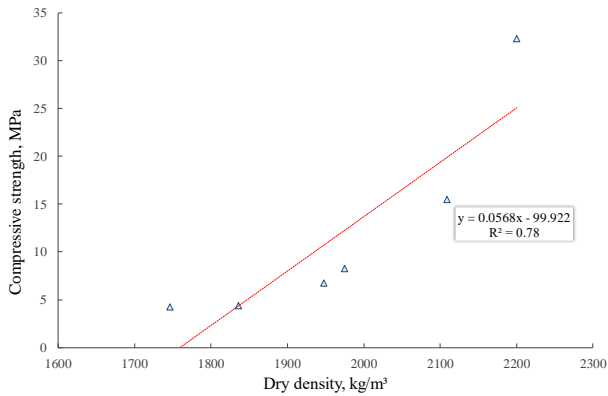


Figure 8. Relationship between the compressive strength and dry density of the geopolymer mortar mixtures

Additionally, to assess the performance and productivity of the geopolymer mortars produced in the study, the structural efficiency, described as the ratio of compressive strength-to-dry density, was determined and presented in Figure 9. This parameter can aid to compare the normal weight and lightweight mortar strengths based on the density. Figure 9 indicated that there was a reduction in the self-weight of the geopolymer mortar as the artificial lightweight fine aggregate content increased. But when this decrease was compared with the change in the compressive strength, it would be comprehended that it was not enough sufficient for equilibrating or ignoring the compressive strength loss. In other words, the reason for the minimum structural efficiency value in the geopolymer mixture containing 100% artificial lightweight fine aggregate appears to be obtaining a larger decreasing rate in the compressive strength than in the dry density [63].

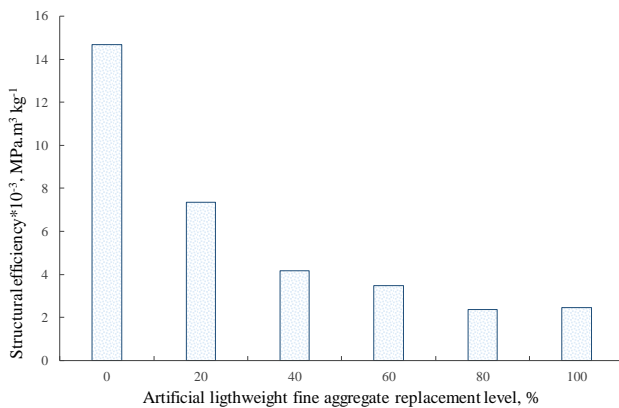


Figure 9. Structural efficiency values versus artificial lightweight fine aggregate replacement level

3.4. UPV

The UPV test can be considered as one of the most important non-destructive testing methods, by which the mortar quality can be determined. By this test, the time passed through the traveling of the sound from the transmitter to the receiver is measured and then, the velocity of the sound is calculated to determine the material quality. For this reason, delaying the time passing during the traveling of the sound would cause the lower ultrasonic pulse velocity and it is well-known the ultrasound can travel very well through the solid

mediums whereas it cannot travel quickly through the porous medium. Moreover, The elastic characteristics and the density of the materials are effective parameters, which can affect the ultrasonic pulse velocity. In light of this information, it can be stated that the higher ultrasound pulse velocity means good quality-material. Besides, in the literature, there is a table as given in Table 4 [64-66], by which the quality of the mortar can be classified in terms of the ultrasonic pulse velocity value.

Table 4. Classifications for concrete quality based on ultrasonic pulse velocity values [50-52]

Concrete quality	Ultrasonic pulse velocity (m s^{-1})
Excellent	> 4500
Good	3600 – 4500
Questionable	3000 – 3600
Poor	2100 – 3000
Very poor	< 2100

The elasticity of the artificial lightweight aggregate influences the ultrasonic pulse velocity more than its density [67,68]. Therefore, in this experimental study, the effect of artificial lightweight fine aggregate on the quality of the geopolymer mortar was measured in terms of the UPV. The variation in the UPV values of the geopolymer mortar mixtures per the replacement level of the fine A-LWA has been indicated in Figure 10. The ultrasonic pulse velocity values changing between 2596 and 1479 m s^{-1} were achieved in this study. While the highest ultrasonic pulse velocity value was achieved in the geopolymer mortar mixture produced with fully natural aggregate, the lowest value was obtained in the mixture involving 100% artificial aggregate. There may be many factors caused this result, but, one of them is the porous structure of the fine A-LWA. The density of the mortar can be the second reason because the ultrasound can more easily propagate in the denser mediums than the looser mediums [67,69]. When the results compared with the classifications given in Table 4, it would be easily seen that the geopolymer mortar mixtures containing more than 40% artificial lightweight fine aggregate can be classified in a very bad qualified class. However, the geopolymer mortar mixtures involving 0 and 20% artificial lightweight fine aggregate are in the poor class regarding the values given in Table 4.

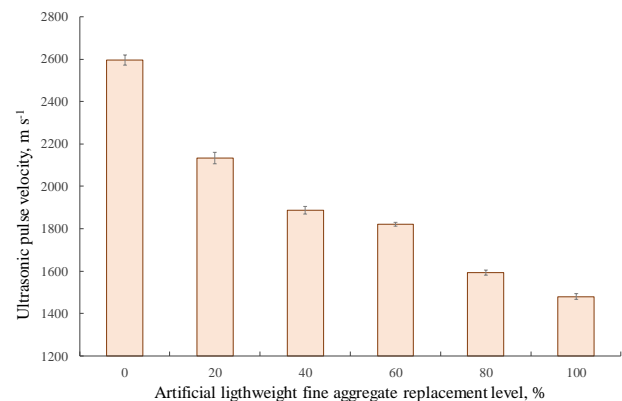


Figure 10. Variation in the UPV of geopolymer mortar mixtures regarding artificial lightweight fine aggregate replacement level

Figure 11a was presented to show the relationship between UPV and the dry density of the geopolymer mortar mixtures in accordance with the substitution level of the A-LWA content. The linear correlation was used to determine the relationship between pulse velocity and density. When the coefficient of determination (R-squared) value of 0.948 given in Figure 11a was regarded, it would be revealed that there is a strong relationship between the compressive strength and dry density of the geopolymer mixtures produced in this study. In other words, it means that when a denser geopolymer mixture is achieved, a higher ultrasonic pulse velocity will be attained, namely, a high quality-mixture will be obtained.

Besides, since the quality of the geopolymer mortar is directly related to its compressive strength, the relationship between the compressive strength and the UPV was presented in Figure 11b. The relationship between strength and UPV was determined in terms of the exponential correlation. When the coefficient of determination (R-squared) value of 0.985 given in Figure 11b was considered, it would be revealed that there is a statistically perfect relationship between the compressive strength and ultrasonic pulse velocity of the geopolymer mixtures produced in this study. Namely, by having the ultrasonic pulse velocity values, the comments about the compressive strength of such type of geopolymer mortar can be done. Demirboğa et al. [69] also concluded that the UPV values can be used in the evaluation of the compressive strength of the mortar.

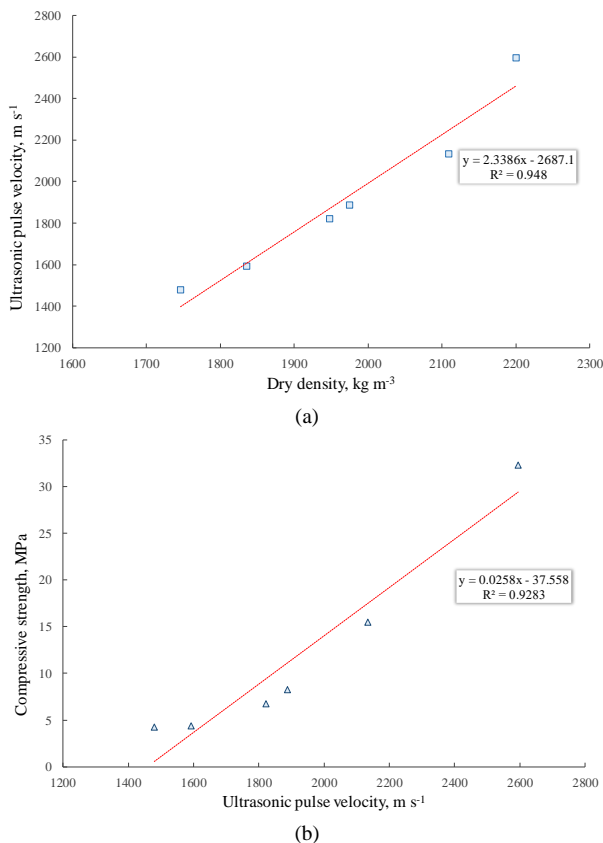


Figure 11. Relationship between: (a) UPV and dry density and (b) the UPV and compressive strength of the geopolymer mortar mixtures

4. CONCLUSIONS

In this experimental study, it was aimed to manufacture geopolymer mortars using various contents of A-LWA produced by cold bonded fly ash. The effects of utilizing different replacement levels of the A-LWA on the workability, density, compressive strength, and ultrasonic pulse velocity values were investigated.

Depending on the aforementioned findings, the conclusions below can be drawn:

- The geopolymer mortar can be produced by only fine A-LWA without segregation and/or bleeding.
- Utilization of the fine A-LWA and increasing its content decreased the flow diameter of the geopolymer mortar mixtures. The flow diameter values are between 175 and 210 mm and the highest flow diameter increase of 20% was obtained using 100% A-LWA.
- The increase in replacement level of A-LWA resulted in a decrease of both fresh and dry density values. Geopolymer mortar having a dry density of less than 2000 kg m^{-3} was produced by replacing 40% or more natural sand with A-LWA. While the fresh density values of the geopolymer mixtures varied between 2289 and 1889 kg m^{-3} the dry density values for the same mixtures were between 2201 and 1746 kg m^{-3} .
- The compressive strength results of geopolymer mortars varied between 4.28 and 32.3 MPa. The increase of A-LWA content from 0% to 100% led to about 87% reduction of strength values. The compressive strength results proved that fine A-LWA significantly reduced the compressive strength of the geopolymer mortar mixes. This finding can be attributed to the weakness, softness, porous structure, and smooth surface of A-LWA particles.
- A strong exponential relationship between the compressive strength and dry density of geopolymer mortar mixtures was established with the coefficient of determination (R-squared) value of 0.937 in this study.
- The range of ultrasonic pulse velocity values of geopolymer mortars is 1479 - 2596 m s⁻¹ according to the variable A-LWA content. The highest and lowest ultrasonic pulse velocity values were detected with 0% and 100% replacement level of A-LWA, respectively. Ultrasonic pulse velocity results showed that using more than 20% fine A-LWA in the geopolymer mortar production results in the poor quality of pore structure.
- Also, there was a strong exponential relationship between the compressive strength and UPV of the geopolymer mixtures with the coefficient of determination (R-squared) value of 0.985.
- The findings also indicated the fact that geopolymer mortars having lower densities were attained by substituting the A-LWA with the natural sand.

REFERENCES

- [1] Malhotra VM. Introduction: sustainable development and concrete technology. *Concr Int.* 2001; 24(7):22.
- [2] Olivier JG, Peters J, Janssens-Maenhout G. Trends in global CO₂ emissions 2012 report. 2012.

- [3] Provis JL, Van Deventer JSJ. Geopolymers: structures, processing, properties and industrial applications. Elsevier; 2009.
- [4] Ranjbar N, Mehrali M, Behnia A, Alengaram UJ, Jumaat MZ. Compressive strength and microstructural analysis of fly ash/palm oil fuel ash based geopolymer mortar. *Materials & Design*. 2014;59(0):532-9.
- [5] Alomayri T, Shaikh FUA, Low IM. Synthesis and mechanical properties of cotton fabric reinforced geopolymer composites. *Composites Part B: Engineering*. 2014;60(0):36-42.
- [6] Dias DP, Thaumaturgo C. Fracture toughness of geopolymeric concretes reinforced with basalt fibers. *Cement and Concrete Composites*. 2005;27(1):49-54.
- [7] Aleem MA, Arumairaj P. Geopolymer concrete—a review. *International Journal of Engineering Sciences and Emerging Technologies*. 2012;1(2):118-22.
- [8] He P, Jia D, Lin T, Wang M, Zhou Y. Effects of high-temperature heat treatment on the mechanical properties of unidirectional carbon fiber reinforced geopolymer composites. *Ceramics International*. 2010;36:1447-53.
- [9] Ortega EA, Cheeseman C, Knight J, Loizidou M. Properties of alkali-activated clinoptilolite. *Cement and Concrete Research*. 2000;30:1641-6.
- [10] Villa C, Pecina ET, Torres R, Gómez L. Geopolymer synthesis using alkaline activation of natural zeolite. *Construction and Building Materials*. 2010;24:2084-90.
- [11] Fernández-Jiménez A, Palomo A. Composition and microstructure of alkali activated fly ash binder: effect of the activator. *Cement and Concrete Research*. 2005;35(10):1984-92.
- [12] Albitar M, Visintin P, Mohamed AMS, Drechsler M. Assessing behaviour of fresh and hardened geopolymer concrete mixed with class-F fly ash. *KSCE Journal of Civil Engineering*. 2015;19(5):1445-55.
- [13] De Vargas, Alexandre Silva, et al. The effects of Na₂O/SiO₂ molar ratio, curing temperature and age on compressive strength, morphology and microstructure of alkali-activated fly ash-based geopolymers. *Cement and concrete composites*. 2011;33(6):653-660.
- [14] Rao, G. Mallikarjuna, and TD Gunneswara Rao. "Final setting time and compressive strength of fly ash and GGBS-based geopolymer paste and mortar." *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2015;40(11):3067-3074.
- [15] Duxson P, Fernández-Jiménez A, Provis JL, Lukey GC, Palomo A, van Deventer JSJ. Geopolymer technology: the current state of the art. *Journal of Materials Science*. 2007;42(9):2917-33.
- [16] Hardjito D, Wallah SE, Sumajouw D, Rangan BV. On the development of fly ash-based geopolymer concrete. *ACI Materials Journal*. 2004;101(6):467-72.
- [17] Hardjito D, Cheak CC, Ing CHL. Strength and setting times of low calcium fly ash-based geopolymer mortar. *Modern applied science*. 2008;2(4):3-11.
- [18] Sathonsaowaphak A, Chindapasirt P, Pimraksa K. Workability and strength of lignite bottom ash geopolymer mortar. *Journal of Hazardous Materials*. 2009;168(1):44-50.
- [19] Adak D, Sarkar M, Mandal S. Effect of nano-silica on strength and durability of fly ash based geopolymer mortar. *Construction and Building Materials*. 2014;70:453-459.
- [20] Colangelo F, Cioffi R, Roviello G, Capasso I, Caputo D, Aprea P, Ferone C. Thermal cycling stability of fly ash based geopolymer mortars. *Composites Part B: Engineering*. 2017;129:11-17.
- [21] Mermerdaş K, Algin Z, Ekmen Ş. Experimental assessment and optimization of mix parameters of fly ash-based lightweight geopolymer mortar with respect to shrinkage and strength. *Journal of Building Engineering*. 2020;101351.
- [22] De Rossi A, Ribeiro MJ, Labrincha JA, Novais RM, Hotza D, Moreira RFPM. Effect of the particle size range of construction and demolition waste on the fresh and hardened-state properties of fly ash-based geopolymer mortars with total replacement of sand. *Process Safety and Environmental Protection*. 2019;129:130-137.
- [23] Wongsu A, Sata V, Nematollahi B, Sanjayan, J, Chindapasirt P. Mechanical and thermal properties of lightweight geopolymer mortar incorporating crumb rubber. *Journal of Cleaner Production*. 2018;195:1069-1080.
- [24] Kaur M, Singh J, Kaur M. Synthesis of fly ash based geopolymer mortar considering different concentrations and combinations of alkaline activator solution. *Ceramics International*. 2018; 44(2):1534-1537.
- [25] Vaibhav KS, Nagaladinni M, Madhushree M, Priya BP. Effect of Silica Fume on Fly Ash Based Geopolymer Mortar with Recycled Aggregates. In *Sustainable Construction and Building Materials*. Springer, Singapore. 2019;595-602.
- [26] Topcu IB. Semi-lightweight concretes produced by volcanic ash. *Cement and Concrete Research*. 1997;27(1):15-21.
- [27] Abdulkareem OA, Mustafa AM, Bakri AI, Kamarudin H, Khairul Nizar I, Saif AEA. Effects of elevated temperatures on the thermal behavior and mechanical performance of fly ash geopolymer paste, mortar and lightweight concrete. *Construction and Building Materials*. 2014;50:377-87.
- [28] Turkish Statistical Institute [Internet]. Thermal Power Plants Water, Wastewater and Waste Statistics; 2013 [cited 2020 March 29]. Available from <http://www.turkstat.gov.tr/HbPrint.do?id=16164>
- [29] Tokyay M. Betonda Uçucu Kül Kullanımı (Türkiye Deneyimi). *End. Atıkların İnşaat Sektöründe Kul. Semp. Ankara*. 18-19 Kasım 1993;29-36,
- [30] Arslan H, Baykal G. Utilization of fly ash as engineering pellet aggregates. *Environmental Geology*. 2006;50(5):761-70.

- [31] Baykal G, Döven, AG. Utilization of fly ash by pelletization process; theory, application areas and research results. *Resources, Conservation and Recycling*. 2000;30(1):59-77.
- [32] esoğlu M. Effects of lightweight aggregate properties on mechanical, fracture, and physical behavior of lightweight concretes [dissertation]. İstanbul: Boğaziçi University; 2004.
- [33] Gesoğlu M, Güneyisi E, Öz HÖ. Properties of lightweight aggregates produced with cold-bonding pelletization of fly ash and ground granulated blast furnace slag. *Materials and structures*. 2012;45(10):1535-46.
- [34] Raj DM, Raju JVN, Suneel M. An experimental study on effect of partial replacement of normal weight aggregates with lightweight aggregates in fly ash based geopolymer concrete. *International Research Journal of Engineering and Technology*. 2018;5(6):1090-6.
- [35] Öz HÖ, Gesoğlu M, Güneyisi E, Sor NH. Self-consolidating concretes made with cold-bonded fly ash lightweight aggregates. *ACI Materials Journal*. 2017;114(3):385-95.
- [36] Top S, Vapur H, Altiner M, Kaya D, Ekicibil A. Properties of fly ash-based lightweight geopolymer concrete prepared using pumice and expanded perlite as aggregates. *Journal of Molecular Structure*. 2019;127236.
- [37] Mousa A, Mahgoub M, Hussein M. Lightweight concrete in America: presence and challenges. *Sustainable Production and Consumption*. 2018;15:131-44.
- [38] Zhang H, Hou S, Ou J. Smart aggregates for monitoring stress in structural lightweight concrete. *Measurement*. 2018;122:257-63.
- [39] Dhir K, Mays RGC, Chua HC. Lightweight structural concrete with aglite aggregate: mix design and properties. *International Journal of Cement Composites and Lightweight Concrete*. 1984;6(4):249-61
- [40] Jafari S, Mahini SS. Lightweight concrete design using gene expression programming. *Construction and Building Materials*. 2017;1390:93-100.
- [41] Kabay N, Aköz F. Effect of prewetting methods on some fresh and hardened properties of concrete with pumice aggregate. *Cement and Concrete Composites*. 2012;34(4):503-7.
- [42] Shen D, Jiang J, Shen J, Yao P, Jiang G. Influence of prewetted lightweight aggregates on the behavior and cracking potential of internally cured concrete at an early age. *Construction and Building Materials* 2015;99:260-71.
- [43] Görhan G, Kürklü G. The influence of the NaOH solution on the properties of the fly ash-based geopolymer mortar cured at different temperatures. *Composites Part B: Engineering*. 2014;58:371-7.
- [44] ASTM C311. Standard Test Methods for Sampling and Testing Fly Ash or Natural Pozzolans for Use as a Mineral Admixture in Portland-Cement Concrete. ASTM International, West Conshohocken, PA; 2000.
- [45] Hardjito D, Wallah SE, Rangan BV. Research into engineering properties of geopolymer concrete. *International Conference on Geopolymer*, 2002. Melbourne, Australia; 2002.
- [46] Hou Y, Wang D, Zhou W, Lu Ho, Wang L. Effect of activator and curing mode on fly ash-based geopolymers. *Wuhan University Journal of Natural Sciences Ed*. 2009;24(5):711-5.
- [47] Arslan H, Baykal G. Utilization of fly ash as engineering pellet aggregates. *Environmental Geology*. 2006;50(5):761-70.
- [48] Güneyisi E, Gesoğlu G, İpek S. Effect of steel fiber addition and aspect ratio on bond strength of cold-bonded fly ash lightweight aggregate concretes. *Construction and Building Materials*. 2013;47:358-65.
- [49] İpek S, Ayodele OA, Mermerdaş K. Influence of artificial aggregate on mechanical properties, fracture parameters and bond strength of concretes. *Construction and Building Materials*. 2020;238:117756.
- [50] Döven AG. Lightweight fly ash aggregate production using cold bonding agglomeration process [dissertation]. İstanbul: Boğaziçi University; 1998
- [51] ASTM C 127. Standard test method for specific gravity and absorption of coarse aggregate. ASTM International, West Conshohocken, PA; 2007.
- [52] ASTM C1437-07. Standard Test Method for Flow of Hydraulic Cement Mortar. ASTM International, West Conshohocken, PA; 2007.
- [53] ASTM C109. Standard test method for compressive strength of hydraulic cement mortars. ASTM International, West Conshohocken, PA; 2008.
- [54] ASTM C597. Standard test method for compressive strength of hydraulic cement mortars. ASTM International, West Conshohocken, PA; 2002.
- [55] TS-EN 206-1. Concrete Part 1. Turkish Standard Institute, Turkey; 2000.
- [56] ACI Committee 213R. American Concrete Institute. Guide for structural lightweight aggregate concrete. *Manual of Concrete Practice*. Farmington Hills, Michigan, USA; 2003
- [57] Mohseni E, Mahyar JK, Mahdi K, Behnam Z, Babak B. Evaluation of mechanical and durability properties of fiber-reinforced lightweight geopolymer composites based on rice husk ash and nano-alumina. *Construction and Building Materials*. 2019;209:532-40.
- [58] Novais RM, Luciano S, João C, Maria PS, Robert CP, João AL. Sustainable and efficient cork-inorganic polymer composites: An innovative and eco-friendly approach to produce ultra-lightweight and low thermal conductivity materials. *Cement and Concrete Composites*. 2019;97:107-17.
- [59] Güneyisi E, Gesoğlu M, Özturan T, İpek S. Fracture behavior and mechanical properties of concrete with artificial lightweight aggregate and

- steel fiber. *Construction and Building Materials*. 2015;84:156-68.
- [60] Top S, Vapur H. Effect of basaltic pumice aggregate addition on the material properties of fly ash based lightweight geopolymer concrete. *Journal of Molecular Structure*. 2018;1163:10-7.
- [61] Kastiukas G, Zhou X, Castro-Gomes J. Development and optimisation of phase change material-impregnated lightweight aggregates for geopolymer composites made from aluminosilicate rich mud and milled glass powder. *Construction and Building Materials*. 2016;110:201-10.
- [62] Posi P, Chaiyapong T, Chatchai T, Suttikait L, Surasit L, Vanchai S, et al. Lightweight geopolymer concrete containing aggregate from recycle lightweight block. *Materials & Design*. 2013;52:580-6.
- [63] Choi YW, Kim YJ, Shin HC, Moon HY. An experimental research on the fluidity and mechanical properties of high-strength lightweight self-compacting concrete. *Cement and Concrete Research*. 2006;36(9):1595-1602.
- [64] Leslie JR, Cheeseman WJ. An ultrasonic method for studying deterioration and cracking in concrete structures. *ACI Materials Journal*. 1949;46:17-36.
- [65] Feldman RF. Non-destructive testing of concrete [Internet]. CBD-187; 1977 [cited 2020 March 29]. Available from: http://web.mit.edu/parmstr/Public/NRCan/CanBldgDigests/cbd187_e.html
- [66] Saint-Pierre F, Philibert A, Giroux B, Rivard P. Concrete quality designation based on ultrasonic pulse velocity. *Construction and Building Materials*. 2016;125:1022-7.
- [67] Bogas J, Alexandre M, Glória G, Augusto G. Compressive strength evaluation of structural lightweight concrete by non-destructive ultrasonic pulse velocity method. *Ultrasonics*. 2013;53(5):962-72.
- [68] Bogas JA. Characterization of structural lightweight expanded clay aggregate concrete [dissertation]. Lisbon:Technical University of Lisbon, Instituto Superior Técnico; 2011. (in Portuguese)
- [69] Demirboğa R, Turkmen I, Karakoç MB. Relationship between ultrasonic velocity and compressive strength for high-volume mineral-admixed concrete. *Cement and Concrete Research*. 2004;34:2329–36.



Farklı Akım Koşullarına Sahip Açık Kanal Akımının Sayısal Modellemesi

Oğuz ŞİMŞEK^{1*}

¹ Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye
 Oğuz ŞİMŞEK ORCID No: 0000-0001-6324-0229

*Sorumlu yazar: oguzsimsek@harran.edu.tr

(Alınış: 22.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Akışkan hacimleri yöntemi, Sayısal modelleme, Su yüzü profili, Vena kontratta

Öz: Açık kanallar, ihtiyaç duyulan suyun kaynaktan istenilen yere iletilmek için kullanılan hidrolik yapılardır. Suyun aktarılması sırasında meydana gelen kayıpların giderilmesi ve suyun hareketinin doğru analiz edilmesi, açık kanalların verimliliğini arttıracaktır. Bu çalışmada, farklı kapak açıklığı, taban eğimi ve akım durumlarında meydana gelen açık kanal akımının su yüzü profilleri sayısal olarak modellenmiştir. Sayısal modellemede, süreklilik ve momentum eşitlikleri, sonlu hacimler yöntemiyle ANSYS-Fluent programı yardımıyla çözülmüştür. Türbülans viskozitesinin sayısal modellemesinde Reynolds Ortalamalı Navier Stokes (RANS) tabanlı Re-normalization Group k-ε (RNG) türbülans modeli, su hava ara kesitinin belirlenmesinde ise akışkan hacimleri yöntemi kullanılmıştır. Sayısal su yüzü profilleri, literatürde bulunan deneysel sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda, sayısal olarak elde edilen su yüzü profillerinin, deneysel profillerle oldukça uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, sayısal olarak elde edilen akım çizgileri ve türbülans kinetik enerji dağılımları değerlendirilmiştir. Farklı akım durumunda oluşan vena kontratta noktasının özellikleri belirlenmiştir. Sayısal modellemenin farklı akım özelliklerine sahip açık kanal akımlarının su yüzü profillerini belirlemede başarılı olduğu görülmüştür.

Numerical Modelling of Open Channel Flow with Different Flow Conditions

Keywords

Volume of fluid method, Numerical modelling, Water surface profile, Vena contracta

Abstract: Open channels are hydraulic structures used to transmit the required water from the source to the desired location. Elimination of the losses that occur during the transfer of water and the correct analysis of the movement of the water will increase the efficiency of the open channels. In this study, the water surface profiles of the open channel flow occurring in different gate openings, bottom slopes and flow conditions are numerically modelled. In numerical modelling, continuity and momentum equations are solved by the finite volume method with the help of ANSYS-Fluent program. In the numerical modelling of turbulence viscosity, Re-normalization group k-ε (RNG) turbulence model based on Reynolds Average Navier Stokes (RANS) is used, and fluid volume method is used to determine the water-air intersection. Numerical water surface profiles are compared with the experimental results found in the literature. As a result of comparison, it has been determined that the water surface profiles obtained numerically are quite compatible with the experimental profiles. In addition, the streamlines and turbulent kinetic energy distributions obtained numerically are evaluated. The properties of the vena contract point were determined to different flow cases. Numerical modelling has been found to be successful in determining the water surface profiles of open channel flows with different flow characteristics.

1. GİRİŞ

Hidrolik yapıların mühendislik tasarımlarında, yapıya etkiyen kuvvet, akım alanı, su yüzü profili gibi birçok parametre dikkate alınmaktadır. Bu parametreler yapının kullanım amacına, yapısal özelliklerine ve yapının önem derecelerine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Hidrolik yapının yüksekliğini belirlemede dikkate alınan

en önemli parametre, hidrolik yapı ile etkileşimde bulunan akımın serbest su yüzü profilidir. Taşkın yatağına sahip bir açık kanalda taşkın anında meydana gelen taşkın dalgasının yüksekliğinin, taşkın yatağının boyutunun belirlenmesinde rolü tartışılmazdır. Farklı ampirik formüller veya yaklaşımlarla akımın su yüzü profilini belirlemek mümkün ise de taşkın dalgası gibi zamana ve yere bağlı değişkenlik gösteren ve farklı akım koşullarının farklı kesitlerde olduğu karmaşık akım

probleminin su yüzü profilinin belirlenmesi oldukça zor olmaktadır. Geçmişte farklı akım problemlerinin su yüzü profillerinin belirlenmesine yönelik farklı durumların ele alındığı deneysel çalışmalar bulunmaktadır. Baines [1], Baines ve Whitehead [2] tarafından lineer olmayan sıg akım denklemleri ve hidrolik sıçramayı dikkate alan viskoz olmayan teori kullanılarak su yüzü profili hesaplanmıştır. Defina ve Susin [3] ve Defina et al. [4] tarafından yapılan iki ayrı çalışmada ise hidrolik teoride taban sürtünmesinin dikkate alındığı yeni bir yöntem ile su yüzü profili elde edilmiştir. Park et al. [5], yüksek Froude sayısına sahip açık kanal akımının su yüzü profilini farklı kapak açıklığı, kanal eğimi ve debi durumları için deneysel olarak ölçmüşlerdir. Deneysel olarak elde edilen su yüzü profillerini, Baines ve Whitehead [2] ve Defina et al. [4] tarafından önerilen iki farklı teorik yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, başlangıçta kritik üstü akım koşullarında bulunan taşkın hareketinin hidrolik açıdan deneysel olarak modellenmesinin başarılı bir şekilde gerçekleştirilebildiği belirtilmiştir. İşcen ve ark. [6], farklı yapılar ile etkileşimde bulunan açık kanal akımlarının su yüzü ve hız profillerini deneysel ve sayısal olarak irdelemişlerdir. Sayısal modellemede akımın özelliklerini belirlemek için sıg akım denklemlerinin çözümünü yaparak elde edilen sonuçları deneysel bulgularla kıyaslamışlardır. Sonuçta, sıg akım denklemlerinin çok karmaşık olmayan üç boyutlu akımların su yüzünü belirlemede başarılı olduğunu ifade edilmiştir.

Fiziksel model çalışmalarının yanında, son yıllarda mühendislik problemlerinin çözümünde bilgisayar kullanımının yaygınlaşmasından dolayı, farklı çözüm programları geliştirilmiş ve kapsamlı analizlerin yapılması bilgisayar yazılımları ile mümkün hale gelmiştir. Bu tür yazılımlar, diğer mühendislik alanlarında olduğu gibi hidrolik mühendisliği alanında da oldukça sık kullanılmaktadır [7,8]. Soydan ve ark. [9], trapez savak üzerinden geçen akımın su yüzü profilini deneysel ve sayısal olarak elde etmişlerdir. Su yüzü profilinin sayısal modellemede akışkan hacimleri yöntemini, akımı idare eden temel denklemlerin çözümünü sonlu hacimler yöntemiyle ANSYS Fluent programı kullanarak k-ε tabanlı türbülans modelleriyle gerçekleştirmişlerdir. Sayısal olarak elde edilen su yüzü profillerinin deneysel profillerle karşılaştırılması sonucunda, Standart k-ε türbülans modelinin kullanılan diğer modellere göre su yüzü profilini belirlemede daha başarılı olduğu belirtilmiştir. Gümüş ve ark. [10], kayar kapak mansabında oluşan batmış hidrolik sıçramayı deneysel ve sayısal modellemişlerdir. Sayısal modellemelerde akımın hareketini idare eden temel denklemleri sonlu hacimler yöntemine dayalı çözüm yapan ANSYS Fluent programı yardımıyla, Standart k-ε (SKE), Relizable k-ε (RKE) ve Re-normalization Group k-ε (RNG) türbülans modellerini kullanarak çözmüşlerdir. Su yüzünün sayısal olarak belirlenmesinde akışkan hacimleri yönteminden yararlanılmıştır. RNG modelinin batık hidrolik sıçramanın geometrisini tahmin etmede diğer modellere kıyasla daha başarılı olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada, Park et al. [5] tarafından deneysel olarak analiz edilen 37 farklı akım durumu, sayısal olarak modellenmiştir. Sayısal modellemede açık kanal akımı idare eden temel denklemlerin çözümünde sonlu hacimler yöntemi, su hava ara yüzünün belirlenmesinde ise akışkan hacimleri yöntemi kullanılmıştır. Deneysel su yüzü profilleriyle, sayısal olarak elde edilen su yüzü profilleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca, farklı akım durumlarında elde edilen türbülans kinetik enerji, akım çizgileri ve vena kontratta noktasının yeri değerlendirilmiştir.

2. DENEYSEL ÇALIŞMA

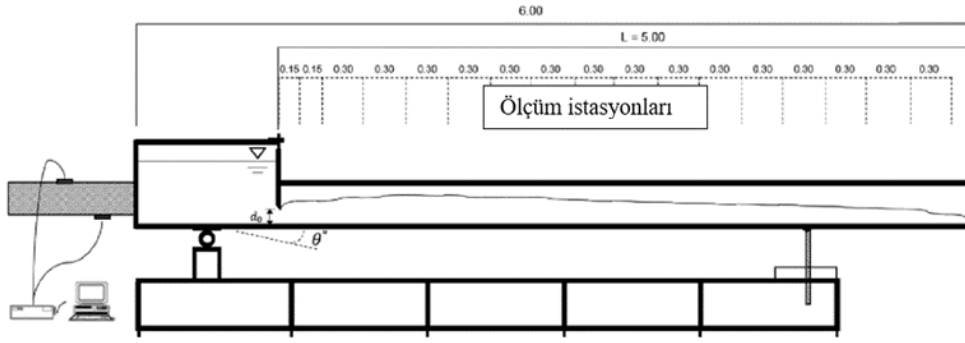
Deneyler, Park et al. [5] tarafından Güney Kore'de bulunan İnje Üniversitesi, Çevre Bilimi ve Mühendisliği, Çevresel Su Kaynakları Laboratuvarında bulunan açık kanal modelinde yapılmıştır (Şekil 1). Açık kanalın uzunluğu, genişliği ve yüksekliği sırasıyla 6,0 m, 0,30 m ve 0,30 m'dir. Açık kanala $\pm 5^\circ$ eğim verilerek farklı özelliklere sahip akım profillerinin oluşması sağlanmaktadır. Park et al. [5], 37 farklı durumda, 18 farklı noktada akım derinliğini ölçerek su yüzü profilini elde etmişlerdir. Deneylerde akım debisi Ulsoflow 309P marka akım ölçer kullanılarak ölçülmüştür. Deneysel çalışmada, kayar kapak açıklığı $d_0=3, 5, 7, 8,5$ ve 10 cm olarak belirlenmiş ve kanal eğimi (θ) $-1^\circ, -2^\circ, 0^\circ, 1^\circ, 2^\circ$ olacak şekilde değiştirilerek farklı akım profillerinin oluşması sağlanmıştır. Birim genişlik debisi (q) $0,052$ m^2/s , $0,083$ m^2/s , $0,094$ m^2/s , $0,095$ m^2/s ve $0,136$ m^2/s olacak şekilde deneyleri gerçekleştirmişlerdir. Çok farklı değişkenin dikkate alındığı deneysel çalışmada, deney koşullarının adlandırılmasında kapak açıklığı, akım birim genişlik debisi ve taban eğim sıralaması yapılmıştır. Örneğin; d030q052u1 olarak adlandırılan durumda, kapak açıklığı $0,30$ m, akım birim genişlik debisi $0,052$ m^2/s ve kanal taban eğimi ise $+1^\circ$, ele alınan diğer bir deney durumunda ise d085q136d2 kapak açıklığı $0,85$ m, akım birim genişlik debisi $0,136$ m^2/s ve kanal taban eğimi ise -2° 'dir. Kanal tabanı eğiminin sıfır olması durumunda ise deney durumunun adlandırılmasında son simge h olarak kullanılmıştır. Ele alınan 37 farklı durumdan, 16'sında kritik altı, 20'sinde kritik üstü ve sadece 1 tanesinde ise sıçrama oluştuğu belirlenmiştir. Sayısal modelleme sonuçlarının değerlendirilmesinde de akım durumları bu şekilde adlandırılmıştır.

3. SAYISAL MODELLEME

3.1. Temel Denklemler ve Türbülans Modeli

Kayar kapak altından geçen açık kanal akımı, iki boyutlu, sıkışmayan, türbülanslı bir akım türüdür. Bu tür açık kanal akımının hareketini idare eden temel eşitlikler, süreklilik ve momentum denklemleridir. Bu denklemler sırasıyla Eşitlik 1 ve 2'de verilmiştir:

$$\frac{(\partial u_i)}{(\partial x_i)} = 0 \quad (1)$$



Şekil 1. Deney düzeneğinin şematik gösterimi [5]

$$\rho \left(\frac{\partial u_i}{\partial t} + u_j \frac{\partial u_i}{\partial x_j} \right) = \rho g_i - \frac{\partial p}{\partial x_i} + \mu \frac{\partial^2 u_i}{\partial x_j^2} \quad (2)$$

$$+ \frac{\partial}{\partial x_j} (\tau_{ij}) = 0$$

Bu eşitliklerde ifade edilen, u_i ortalama hız bileşenlerini, p ortalama basıncı, μ akışkanın dinamik viskozitesini, ρ akışkanın yoğunluğunu, ρg_i yerçekiminin sebep olduğu kütlelesel kuvveti, t zamanı, τ_{ij} ise türbülans (Reynolds) gerilmelerini ifade etmektedir. Reynolds gerilmeleri Boussinesq yaklaşımına göre Eşitlik 3'teki gibi ifade edilir:

$$\tau_{ij} = -\overline{\rho u'_i u'_j} = \mu_t \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) - \frac{2}{3} \delta_{ij} \rho k \quad (3)$$

Burada, u'_i ve u'_j türbülans hız sapınçları ve μ_t türbülans viskozitesi olup δ_{ij} Kronecker deltasıdır ($i=j$ için $\delta_{ij}=1$).

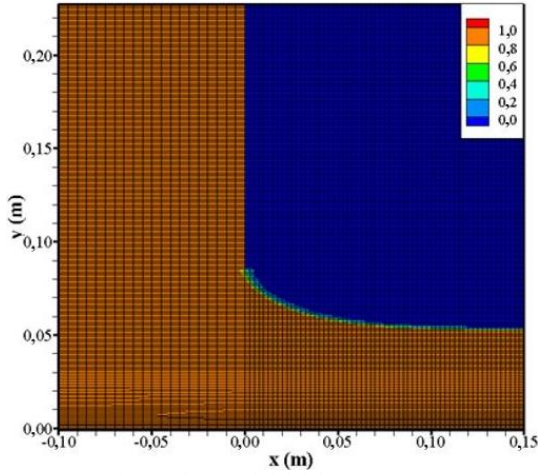
Reynolds Ortalamalı Navier Stokes (RANS) eşitliklerinde üç boyutlu akışta bir basınç, üç hız, altı türbülans kayma gerilmesi bileşeni ile toplam 10 bilinmeyen bulunur. İki boyutlu bir akışta ise bilinmeyen sayısı 6 olmaktadır. İki boyutlu akışta 6 bilinmeyene karşılık, iki x ve y doğrultusundaki RANS eşitliği ve bir süreklilik eşitliği olmak üzere sadece üç eşitlik bulunduğu bilinmeyenlerin çözümü mümkün olmamaktadır. Bu bilinmeyenlerin çözülebilmesi için Eşitlik 3 içinde bulunan türbülans viskozitesinin, μ_t , çözülmesiyle eşitlik sisteminin çözümü mümkün olmaktadır. Türbülans viskozitesinin sayısal olarak çözümünün yapılabilmesi için türbülans kapatma modelleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada, μ_t türbülans viskozitesinin modellenmesi için Yakhot et al. [11] tarafından geliştirilen, RNG k- ϵ türbülans kapatma modeli kullanılmıştır. RNG türbülans kapatma modeli türbülans kinetik enerji (k) ve onun kayıp oranı olan ϵ 'un çözümünü yaparak eşitlik sistemini kapatmaktadır. RNG türbülans kapatma modeli çözdüğü eşitlikler içerisinde şekil değiştirme tensorü ifadesinin ilave edilmesiyle, yüksek kayma oranlarına sahip, ikincil akımların, ayrılma bölgelerinin ve akım çizgisi eğriselliğinin olduğu akımların modellenmesinde başarılı olduğu ifade edilmiştir. Kritik altı, kritik ve kritik üstü akım koşullarını bir arada bulunduran eğrisel geniş başlıklı savak ile etkileşimde bulunan açık kanal akımının sayısal modellenmesinde de kullanılan diğer modellere kıyasla RNG türbülans modeli akımı modellemede daha başarılı olmuştur [12]. Ayrıca, Gümüş ve Şimşek [13],

eğimli açık kanal akımını deneysel ve sayısal olarak modellemişlerdir. Deneysel ve sayısal model sonuçlarının karşılaştırılmasından RNG türbülans modelinin akım alanını ve su yüzü profilini belirlemede başarılı olduğu belirlenmiştir. Farklı bir çalışmada kayar kapak mansabında oluşan batık hidrolik sıçramanın deneysel ve sayısal modellenmesi yapılmıştır. Batık hidrolik sıçramanın geometrik özelliklerinin deneysel ve farklı türbülans modelleri kullanılarak karşılaştırıldığı bu çalışmada RNG türbülans modeli başarılı bulunmuştur [10]. Literatürde bulunan mevcut bu çalışmalar dikkate alındığında, kritik altı, kritik üstü ve hidrolik sıçrama gibi farklı özelliklere sahip akımların ele alındığı 37 farklı deney durumunun sayısal modellenmesinde de RNG türbülans modeli kullanılmıştır.

Sayısal modellemelerde, çözüm alanında akım sürekliliğinin sağlandığı kontrolü yapılarak çözüm süresine karar verilmiştir. Sayısal modellemelerde iterasyon adımı büyüklüğü, Courant sayısı, $Cn \leq 2$ olacak şekilde kullanılan program tarafından otomatik olarak belirlenmiştir. Her bir hesaplama adımında iterasyon sayısı 10 olarak kullanılmıştır.

3.2. Akışkan Hacimleri Yöntemi

Akışkan hacimleri yöntemi, su hava arakesitinin şeklinin ve yerinin belirlenmesinde oldukça sık kullanılan ve oldukça başarılı bir yöntemdir [14]. Bu çalışmada, su hava ara kesitinin hesabında akışkan hacimleri yöntemi (Volume of Fluid, VOF) kullanılmıştır. VOF yöntemi hücrelerin tamamen hava ile dolu, kısmen ya da tam su ile dolu olduğunu belirlemede kullanılmaktadır. Bu yöntemde, hacimsel doluluk oranını temsilen bir akışkan hacmi (F) tanımlanmakta, $F=1$ (kırmızı renk) için ağ elemanı tamamen su dolu, $F=0$ (mavi renk) için ağ elemanı hava ile dolu ve $0 < F < 1$ ise ağ elemanı kısmen su ile dolu (kırmızı ve mavi dışında olan renkler) olmaktadır (Şekil 2). Şekil 2'de, kayar kapak altından geçen açık kanal akımının akışkan hacimleri yöntemiyle elde edilmiş ağ elemanı doluluk oranları verilmiştir. Akışkan hacimleri yöntemi ile serbest su yüzünün hesaplanmasında "Geo-Reconstruct" yaklaşımı kullanılmıştır [15].



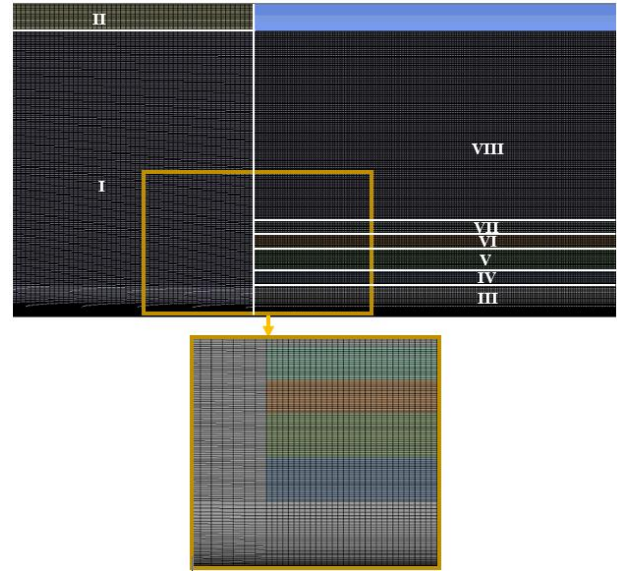
Şekil 2. Ağ elemanı hacimsel doluluk oranı gösterimi

3.3. Sayısal Hesaplama Ağı

Hesaplama ağı tasarımının, sayısal model sonuçları üzerinde etkisinin olduğu nümerik modelleme yapanlar tarafından bilinmektedir. Sayısal model sonuçlarının, hesaplama ağından bağımsızlaşıp bağımsızlaşmadığını belirlemek üzere ağ yakınsama indeksi yöntemi birçok araştırmacı tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır [16,17,18,19,20]. Bu yöntem, en az 3 farklı yoğunluğa sahip hesaplama ağı tasarımı yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu çalışmada da 3 farklı yoğunluğa sahip hesaplama ağı tasarımı yapılmış ve elde edilen ağ yakınsama indeksi değerlerine göre elde edilen sayısal model sonuçları üzerinde hesaplama ağının etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Sayısal modellemede kullanılan hesaplama ağı Şekil 3'te verilmiştir. Çalışma alanı 8 alt bölgeye ayrılmıştır. 37 farklı durumun değerlendirildiği sayısal modellemede tek bir hesaplama ağı kullanılması için, her kapak açıklığında farklı bir alt bölge tanımlanmıştır. Katı sınıra yakın bölgede sıklaştırma yapılarak viskoz alt tabakanın ve sınır tabakasının gelişiminin daha hassas bir şekilde belirlenmesi amaçlanmıştır. Sayısal modellemede kullanılan hesaplama ağında minimum ortogonal oranı 0,998, maksimum çarpıklık 0,001691 ve maksimum en boy oranı (aspect ratio) ise 3,75 olarak hesap edilmiştir. Bu değerler dikkate alındığında, hesaplama ağı tasarımının oldukça hassas olduğu ve kaliteli hesaplama ağı olarak nitelendirileceği söylenebilir [15]. Hesaplama ağında alt bölgelerde bulunan eleman sayıları Tablo 1'de verilmiştir. Çözüm bölgesi içerisinde toplam 722.000 eleman bulunmaktadır. Özellikle, deneysel bulguların elde edildiği bölgede daha küçük ağ elemanı tasarımı yapılmıştır. Böylelikle deneysel verilerle karşılaştırılacak sonuçların daha hassas olması sağlanmıştır.

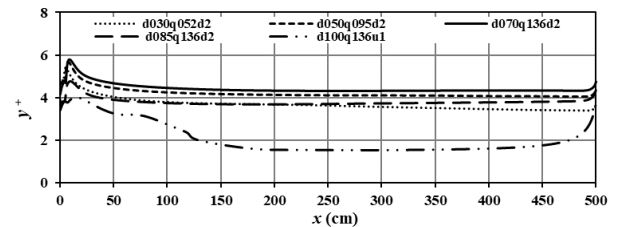
Tablo 1. Alt bölgelerde bulunan ağ eleman sayıları

Alt Bölge	Eleman sayısı	Alt Bölge	Eleman sayısı
I	200x310	V	2000x20
II	200x200	VI	2000x15
III	2000x40	VII	2000x15
IV	2000x20	VIII	2000x200



Şekil 3. Hesaplama ağı

Farklı kapak açıklıklarında akım hızlarının en büyük olduğu debi ve kanal eğimi durumunda elde edilen $y^+ (=u_*y/v)$ değerinin kanal boyunca değişimi Şekil 4'te verilmiştir. Burada, $u_* (=(\tau_o/\rho)^{1/2})$ kayma hızı, y kanal tabanına en yakın ağ elemanının yüksekliği ve ν kinematik viskozitedir. Kapak açıklığının 7 cm, akım birim genişlik debisinin $0,136 \text{ m}^2/\text{s}$ ve kanal eğiminin d2 olduğu durumda en büyük y^+ değerinin 6 civarında elde edildiği görülmektedir. Aynı kanal eğimi ve debi durumunda, kapak açıklığının azalmasıyla y^+ değeri azalmaktadır. En küçük y^+ değerinin, ters eğime ve en büyük kapak açıklığına sahip d100q136u1 durumunda olduğu söylenebilir. Ele alınan tüm durumlarda, y^+ değerinin 10 değerinden küçük olması, sayısal modellemelerde kullanılan hesaplama ağının kanal tabanına yakın ilk elemanın viskoz alt tabaka içerisinde yer aldığını göstermektedir [21]. RNG türbülans modeli kullanılarak gerçekleştirilen sayısal modellemelerde duvar yakının modellenmesinde duvar fonksiyonu olarak Enhanced duvar fonksiyonu kullanılmıştır. Bu model iki katmanlı bir model olup, duvara (kanal tabanına veya yan yüzeylere) yakın hesaplama ağının yüksekliğinin, viskoz alt tabakanın kalınlığından daha az olduğu zaman kullanılması önerilmektedir [15,22].

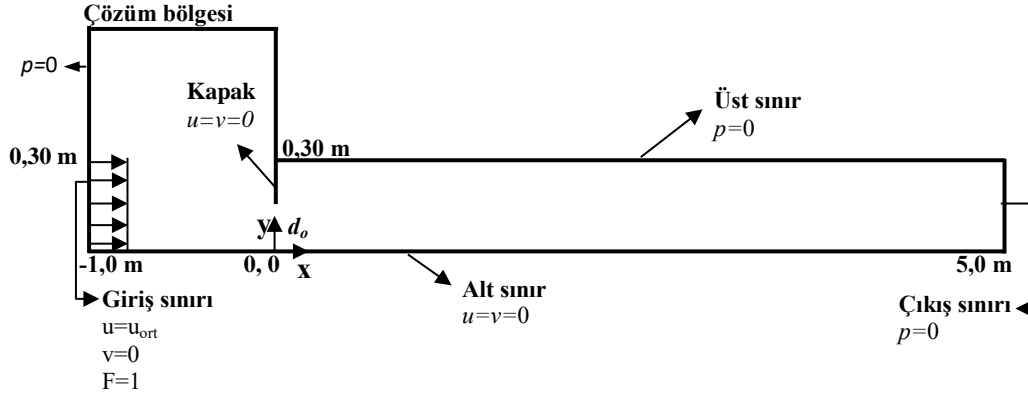
Şekil 4. Farklı kapak açıklıklarında hesaplanan y^+ değerinin kanal boyunca değişimi

3.4 Çözüm Bölgesi, Başlangıç ve Sınır Şartları

Sayısal modellemede kullanılan çözüm bölgesi, sınır ve başlangıç şartları Şekil 5'te verilmiştir. Üst, çıkış sınırları ve giriş sınırının üzerinde kalan kısımda $p=0$ sınır şartı, kanal tabanının temsil eden alt sınırdaki ve kayar kayak $u=v=0$ sınır şartı, giriş sınırında ise deneysel

verilerden elde edilen akım ortalama hız değeri yatay hız bileşeni olarak kullanılmıştır. Ayrıca, giriş sınırında başlangıç sınır şartı olarak akışkan hacimleri yöntemi için, akımın bu sınırdan girdiğini ifade etmek üzere $F=1$ olarak tanımlanmıştır. Bunun yanında giriş sınırında başlangıç sınır şartı olarak hidrolik çap ve türbülans şiddeti değerleri sırasıyla 0,4 ve %1 olarak belirlenmiştir. Başlangıçta, çözüm bölgesinin tamamı boş, yani $F=0$ olarak çözümler gerçekleştirilmiştir. Farklı

kapak açıklığı ve giriş durumu için, kayar kapağın kanal tabanından olan yüksekliği ve akım hızı değiştirilmiştir. Ayrıca sayısal modellemede farklı eğimlerde çözüm bölgesinin tamamen döndürülmesi suretiyle sağlanmıştır. Kayar kapağın kanal tabanı ile kesişim noktası, koordinat sisteminin orijini olarak tanımlanmış ve deneysel verilerle aynı koordinat takımı kullanılması sağlanmıştır.



Şekil 5. Sayısal çözüm bölgesi, sınır ve başlangıç şartları

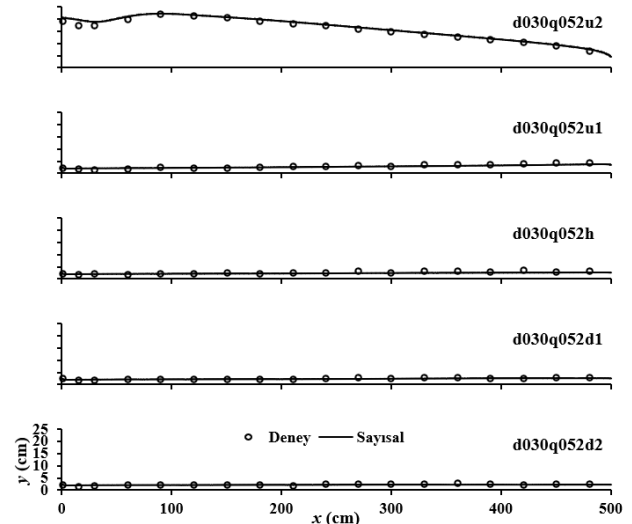
4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

4.1. Su Yüzü Profilleri

Su yüzü profillerinden elde edilen akım derinlikleri, taşkın dalgalarından korunmak üzere inşa edilecek yapıların yüksekliğini belirlemek üzere kullanılan önemli parametredir. Taşkın dalgalarının yatağını terk ederek, çevresinde bulunan yerleşim yerleri ve alanlara zarar vermesinin önlenmesi, can ve mal kaybının meydana gelmesinin önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Park et al. [5] tarafından 37 farklı durum için elde edilen deneysel su yüzü profillerinin sayısal modellemesi yapılmıştır. Deneysel ve sayısal olarak elde edilen su yüzü profilleri karşılaştırılmıştır. Şekil 6'da kapak açıklığının 3 cm, akım birim genişlik debisinin $0,052 \text{ m}^2/\text{s}$ ve farklı kanal eğimlerinde Park et al. [5] tarafından deneysel olarak elde edilen su yüzü profillerinin sayısal su yüzü profilleriyle karşılaştırılması verilmiştir. Elde edilen grafikler incelendiğinde, kanal eğimin $+2^\circ$ (u_2) olduğu durumda kayar kapağın hemen mansabında, $x=0-50$ cm olduğu bölgede su yüzü profilleri arasında az da olsa bir uyumsuzluk söz konusu olmuştur. Kritik üstü akım koşullarının oluştuğu $+1^\circ$ (u_1), 0° (h), -1° (d_1) ve -2° (d_2) kanal eğimlerinde elde edilen su yüzü profillerinin oldukça uyumlu olduğu görülmektedir. Ters kanal eğiminin söz konusu olduğu u_1 eğiminde, kanal membasından mansaba doğru ilerledikçe akım derinliğinin deneysel ve sayısal su yüzü profillerinde arttığı görülmektedir. Kanal eğiminin arttığı durumlarda (h , d_1 ve d_2) kanal membasından mansabına doğru ilerledikçe akım derinliği azalmaktadır.

Kapak açıklığının 5 cm olduğu durumda, farklı kanal eğimi ve akım durumunda elde edilen deneysel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması Şekil 7'de verilmiştir. Kanal eğiminin u_2 ve u_1 olduğu durumda

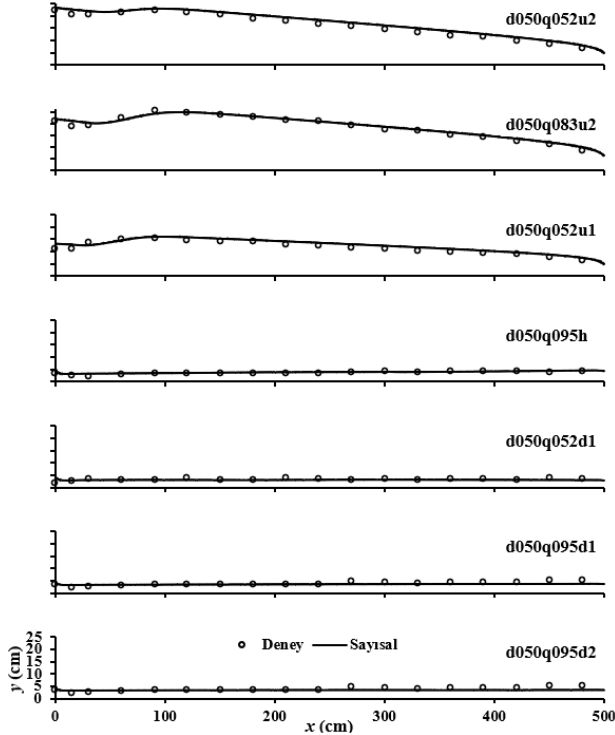
elde edilen su yüzü profillerinden kritik altı akım koşullarının oluştuğu, h , d_1 ve d_2 durumlarında ise tüm akım şartları altında kritik üstü akım koşullarının oluştuğu söylenebilir. Deneysel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılmasından, profillerin birbiriyle oldukça uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Kanal eğiminin u_2 olduğu durumda kapağın hemen mansabında su derinliğinin aynı akım durumunda kanal eğiminin azalmasıyla azaldığı söylenebilir.



Şekil 6. Deneysel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması ($d_0=3$ cm)

Şekil 8'de kapak açıklığının 7 cm olduğu, farklı kanal eğimi ve akım durumunda meydana gelen deneysel ve sayısal su yüzü profilleri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda, profillerin birbiriyle oldukça benzer olduğu görülmektedir. $q=0,094 \text{ m}^2/\text{s}$ ve kanal eğiminin u_1 olduğu durumda elde edilen deneysel ve sayısal profiller arasında sıçrama ön yüzünde çok az farklılık olduğu

söylenbilir. Kanal eğiminin u_2 olduğu bütün akım durumlarında ve u_1 eğiminde $q=0,136 \text{ m}^2/\text{s}$ durumu dışında kritik akım koşulları oluşurken, ele alınan diğer taban eğimi ve akım durumunda (7 farklı durum) kritik üstü akım koşullarının oluştuğu belirlenmiştir. Aynı debi durumunda ($q=0,136 \text{ m}^2/\text{s}$) kanal eğiminin d_1 'den d_2 'ye geçmesi halinde su derinliğinde azalma bariz bir şekilde görülmektedir.



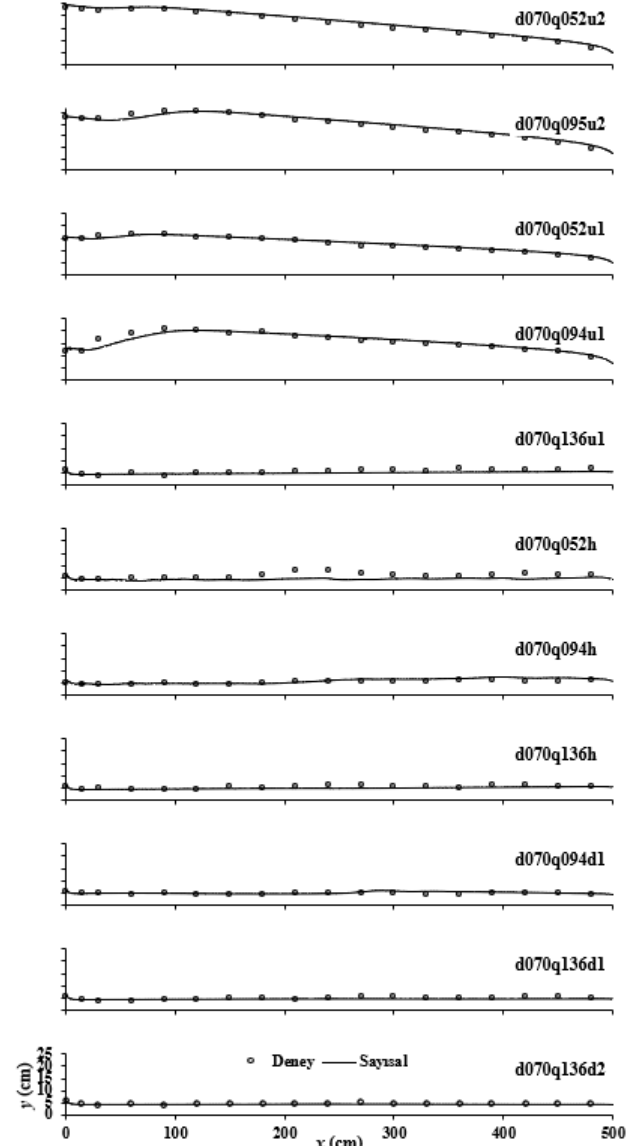
Şekil 7. Deneyel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması ($d_0=5 \text{ cm}$)

Şekil 9'da, $d_0=8,5 \text{ cm}$ için farklı akım ve kanal eğimi durumunda deneyel ve sayısal olarak elde edilen su yüzü profillerinin karşılaştırılması verilmiştir. Kapak açıklığının 7 cm olduğu duruma benzer olarak $q=0,094 \text{ m}^2/\text{s}$ için kapağın hemen mansabında deneyel ve sayısal su yüzü profilleri arasında çok az farklılığın oluştuğu görülmektedir. Bunun dışında, ele alınan tüm akım ve eğim durumlarında genel olarak deneyel ve sayısal su yüzü profilleri oldukça uyumlu oldukları söylenebilir. Farklı akım durumlarında deneyel su yüzü profillerinde meydana gelen derinlik artış ve/veya azalış miktarları sayısal modelde başarılı bir şekilde tahmin edilmiştir.

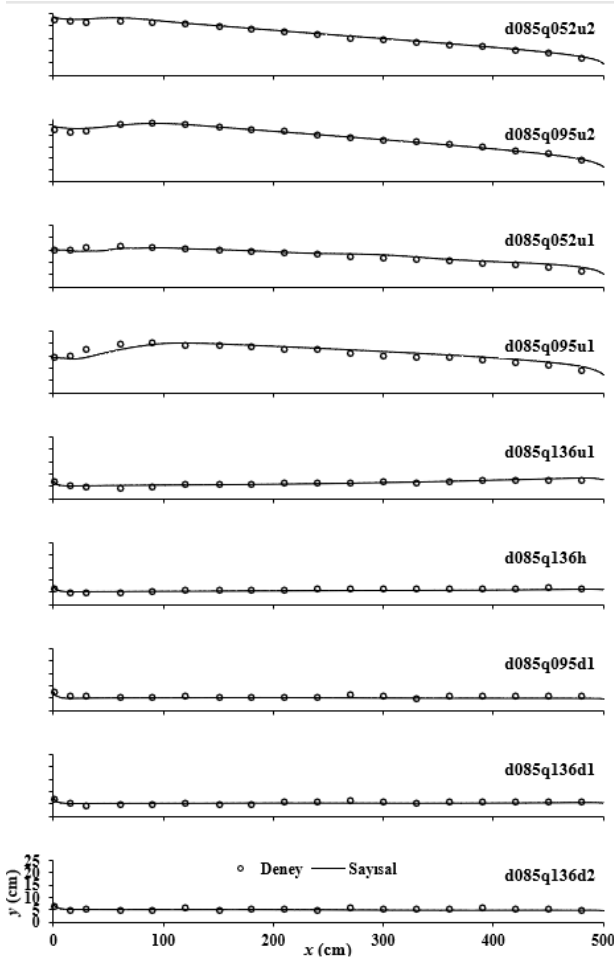
Kapak açıklığının 10 cm olduğu 5 farklı koşulda elde edilen deneyel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması Şekil 10'da verilmiştir. Deneyel ve sayısal su yüzü profillerinin birbiriyle oldukça uyumlu olduğu verilen şekillerden açıkça görülmektedir. Bu kapak açıklığında ele alınan koşullarda kritik altı akım durumunun oluştuğu görülmektedir. Kayar kapaktan kanal çıkışına doğru gittikçe deneyel ve sayısal su yüzü profilleri arasındaki uyumun arttığı söylenebilir.

Sonuç olarak, 37 farklı durumda deneyel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılmasından, elde edilen sayısal su yüzü profillerinin deneyel profillerle oldukça uyumlu olduğu belirlenmiştir. Teorisinde belirtildiği

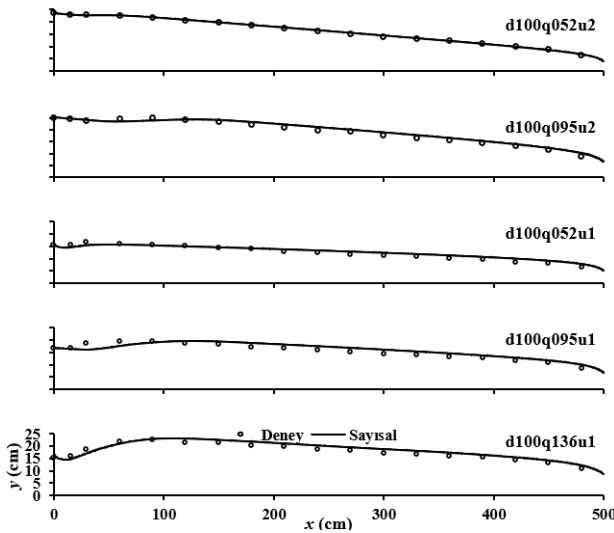
üzere, yüksek hız gradyanlarına sahip, ikincil akımların, akım alanında eğriselliğin ve akımda ayrılmaların söz konusu olduğu akımlarda başarılı olduğu belirtilen RNG türbülans modelinin, hidrolik sıçrama, kritik altı ve üstü gibi farklı akım koşullarının söz konusu olduğu açık kanal akımlarının, su yüzü profilini sayısal olarak belirlemede başarılı olduğu görülmektedir. Ayrıca, Park et al. [5] tarafından 37 farklı açık kanal akımının sınıflandırılmasının, sayısal model sonuçlarıyla uyumlu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 8. Deneyel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması ($d_0=7 \text{ cm}$)



Şekil 9. Deneysel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması ($d_0=8.5$ cm)



Şekil 10. Deneysel ve sayısal su yüzü profillerinin karşılaştırılması ($d_0=10$ cm)

4.2. Akım Çizgileri Deseni ve Vena Kontratta Özellikleri

Farklı kapak açıklığı, eğim ve debide, kritik altı akımın oluştuğu koşullarda elde edilen akım çizgilerinin desenleri Şekil 11'de verilmiştir. Kritik altı akım koşullarının oluştuğu tüm durumlarda kapak mansabında geri dönüş bölgesinin meydana geldiği görülmektedir. Kapak açıklığının 5 cm olduğu ve akım debisinin aynı

olduğu deney durumunda, kanal eğiminin u_1 'den u_2 'ye değişmesiyle geri dönüş bölgesinin uzunluğu büyümekte ve kalınlığı artmaktadır. Kapak açıklığının 7 cm olduğu durumda ise akım debisinin ve kanal eğiminin ters yönde artmasıyla, geri dönüş bölgesi $d_0=5$ cm duruma benzer bir davranış sergilemektedir. Ayrıca, akım debisinin artmasıyla geri dönüş bölgesinin uzunluğu artmaktadır. $d_0=8,5$ ve 10 cm için, akım debisinin 0,052 olduğu durumda kanal taban eğiminin artmasıyla diğer kapak açıklıklarının aksine geri dönüş bölgesinin uzunluğu azalmaktadır. Akım debisinin artmasıyla her iki kapak açıklığında da geri dönüş bölgesinin uzunluğunun arttığı görülmektedir. Ayrıca, akım çizgilerinin deseninden, kapak altı bölgesinde akım alanında meydana gelen büzülme çok net görülmektedir.

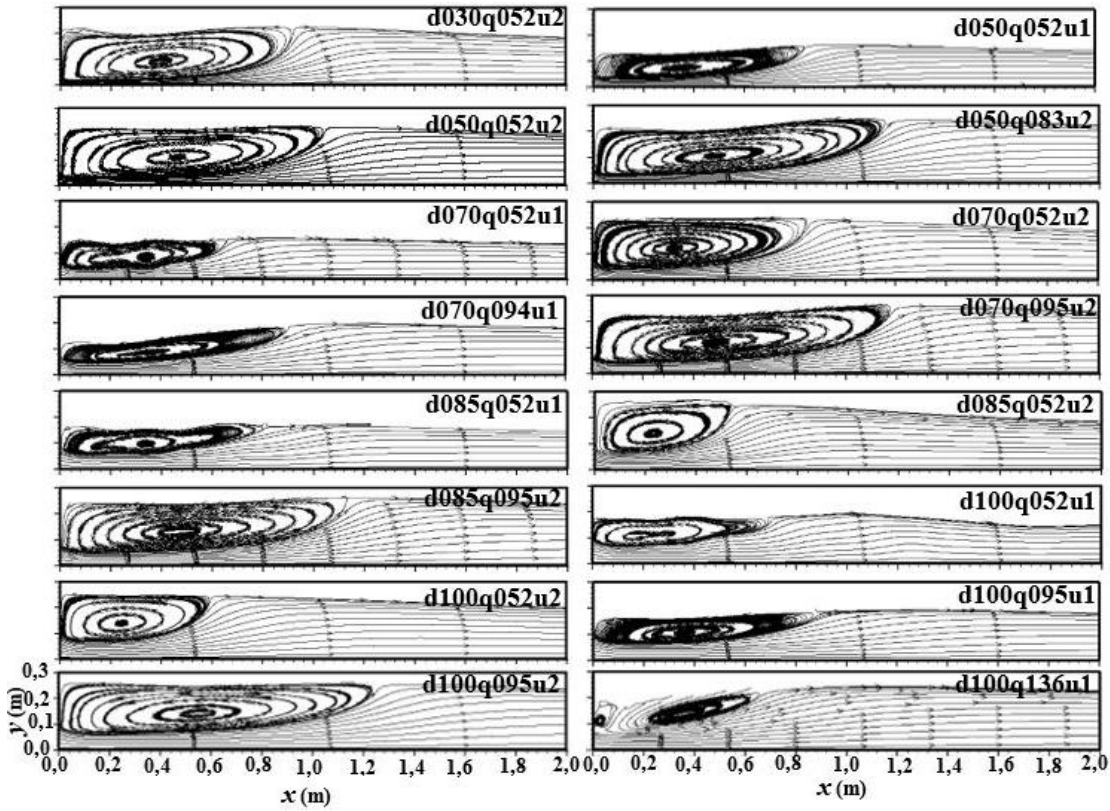
Kayak kapak altından geçen açık kanal akımda, kapak membasında su derinliğinin kapak açıklığından daha büyük olması nedeniyle kapak altına yönelmek zorunda kalmaktadır. Bu durumdan dolayı akım alanında daralma yaşanmaktadır. Kapak memba bölgesinde başlayan akım alanındaki daralma, akım kapak altından geçtikten sonra mansap bölgesinde belirli bir mesafe de devam etmektedir. Akım çizgilerinin birbirine en fazla yaklaştığı, diğer bir ifadeyle akım çapının en az olduğu ve buna bağlı akım hızının en büyük olduğu noktaya vena kontrat denilmektedir. Bu çalışmada, 37 farklı deney durumunda oluşan vena kontratta noktasının x ve y koordinatlarının kapak açıklığı ile boyutsuzlaştırılmış değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Tablodaki değerler incelendiğinde, x/d_0 oranının 1 ile 2 arasında, y/d_0 oranının ise 0,57 ile 0,724 arasında değiştiği görülmektedir. Kayak kapaktan dolayı akım alanında meydana gelen büzülme oranının, en fazla %43 en az ise %27,6 olduğu söylenebilir. En küçük x/d_0 ve en büyük y/d_0 oranının d085q052u2 durumunda, en küçük y/d_0 oranının d085q095d1 durumunda, en büyük x/d_0 oranının ise d070q094h deney durumunda olduğu anlaşılmaktadır. Aynı debi ve kapak açıklığında, kanal taban eğiminin u_2 'den d_2 'ye (negatif eğimden pozitif eğime) değiştiği durumda, y/d_0 oranı azalırken x/d_0 oranı artmaktadır. Bu sonuçtan eğimin artmasıyla akımda eğriselliğin yatayda daha uzun mesafede görüldüğü, düşeyde ise eğriselliğin arttığı söylenebilir. Aynı debi ve kanal eğimi durumunda ($q052u1$), kapak açıklığının artmasıyla y/d_0 oranı artmakta ve x/d_0 oranı ise azalmaktadır. Aynı kapak açıklığı ve kanal taban eğim durumunda debinin artmasıyla, x/d_0 oranı artmakta iken y/d_0 oranı azalmaktadır.

4.3. Türbülans Kinetik Enerji

Şekil 12'de kritik altı akımın oluştuğu 18 farklı durumda elde edilen türbülans kinetik enerjisinin dağılımı verilmiştir. d100q136u1 durumunda maksimum türbülans kinetik enerji değeri kapak arka yüzeyi üzerinde meydana gelmesine karşılık, ele alınan diğer durumlarda farklı kapak mansabında belirli bir uzaklıkta meydana gelmiştir. Kapak açıklığının artmasıyla maksimum türbülans enerjinin oluştuğu noktanın kapak açıklığına oranı azalmaktadır. d085q052u2 durumunda, maksimum türbülans kinetik enerji kapak altı geçiş bölgesi ve su yüzünde oluşurken, ele alınan diğer

durumlarda su derinliğinin orta bölgesinde oluşmuştur. Aynı kapak açıklığında debinin artmasıyla türbülans

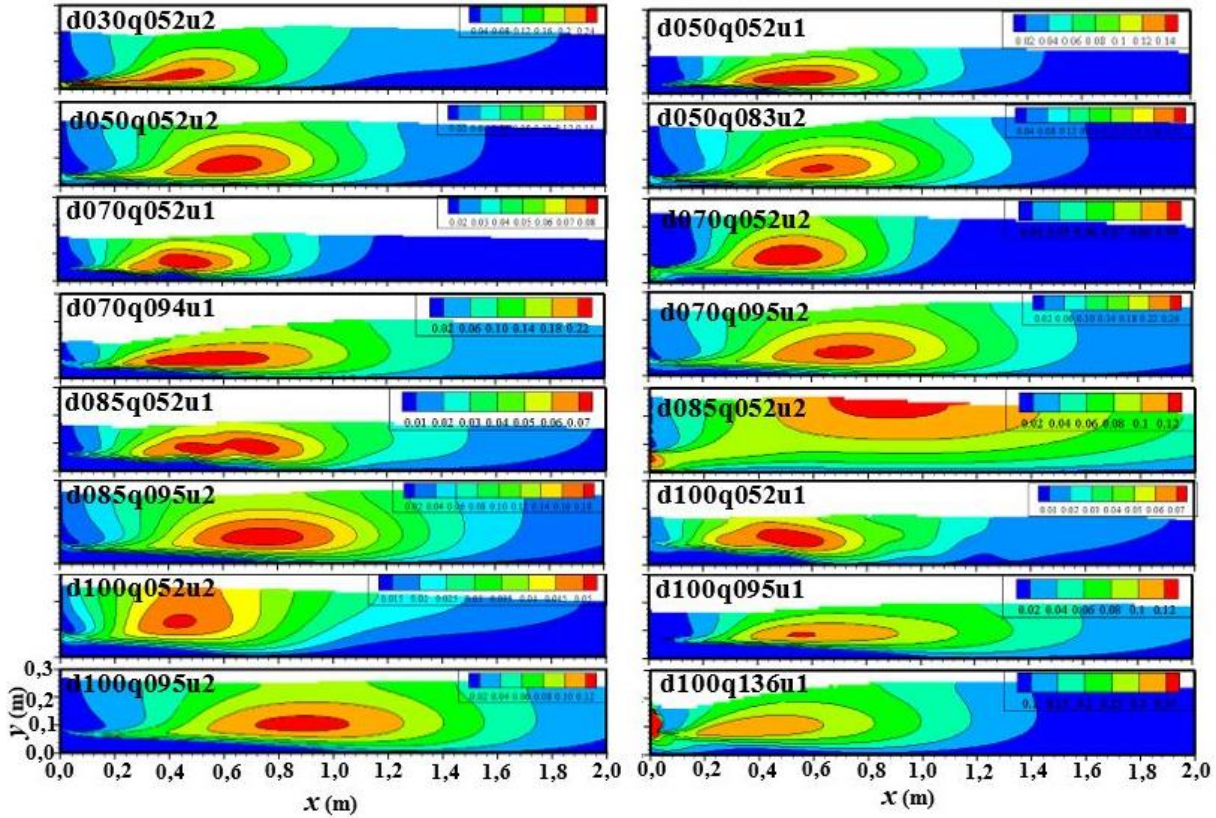
kinetik enerjisinin arttığı söylenebilir.



Şekil 11. Farklı kritik altı akım durumlarında elde edilen akım çizgileri desenleri

Tablo 2. Vena kontratta noktasının özellikleri

d_o (cm)	3		5		7		8,5		10	
Durum	x/d_o	y/d_o	x/d_o	y/d_o	x/d_o	y/d_o	x/d_o	y/d_o	x/d_o	y/d_o
q052u2	1,281	0,659	1,256	0,644	1,121	0,687	0,991	0,724	1,129	0,687
q052u1	1,653	0,623	1,233	0,635	1,221	0,602	1,189	0,655	1,205	0,697
q052h	1,497	0,618			1,411	0,634				
q052d1	1,575	0,645	1,684	0,598						
q052d2	1,789	0,619								
q083u2			1,231	0,652						
q095h			1,640	0,641						
q095d1			1,558	0,616	1,511	0,700	1,664	0,566		
q095d2			1,774	0,609						
q095u2					1,378	0,647	1,259	0,644	1,297	0,656
q094u1					1,401	0,639				
q136u1					1,507	0,631	1,520	0,618	1,660	0,643
q094h					1,962	0,634				
q136h					1,887	0,612	1,806	0,616		
q136d1					1,523	0,626	1,891	0,613		
q136d2					1,906	0,624	1,632	0,620		
q095u1							1,347	0,642	1,233	0,644



Şekil 12. Farklı kritik altı akım durumlarda elde edilen türbülans kinetik enerji desenleri

5. SONUÇLAR

Kayar kapaklar, açık kanal akımlarını kontrol etmek, düzenlemek ve debiyi ölçmek üzere inşa edilen hidrolik yapılardır. Kayar kapağın akım alanına inşa edilmesiyle akım rejiminde büyük değişiklikler meydana gelmektedir. Kayar kapak mansabında, farklı koşullarda meydana gelen hidrolik sıçrama, kritik altı ve üstü koşulların oluştuğu açık kanal akımının sayısal modellemesi yapılmıştır. Sayısal modellemede temel eşitliklerin çözümünde sonlu hacimler yöntemine dayalı çözüm yapan ANSYS paket programı, türbülans viskozitesinin çözümünde RNG türbülans kapatma modeli kullanılmıştır. Su hava arakesitinin belirlenmesinde ise akışkan hacimleri yönteminden yararlanılmıştır. Sayısal modelleme sonucunda elde edilen su yüzü profilleri, deneysel profillerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda, deneysel ve sayısal su yüzü profillerinin birbiriyle oldukça uyumlu olduğu belirlenmiştir. Kritik altı akım koşullarında elde edilen akım çizgileri deseninden, kapak açıklığının ve kanal eğiminin aynı olması durumunda, kayar kapak mansabında oluşan geri dönüş bölgesinin uzunluğunun arttığı görülmüştür. Maksimum türbülans kinetik enerji değeri kapak açıklığının 4 ile 14 katı arasında meydana gelmektedir. Vena kontratta noktasının kapak açıklığının artmasıyla mansapta daha uzak noktalarda oluştuğu görülmekte, akımda meydana gelen eğriselliğin arttığı belirlenmiştir. Ele alınan farklı akım durumlarında, ortalama y/d_o değeri 0,638 ve x/d_o değeri 1,482 olarak hesap edilmiştir.

Çalışmanın sonucunda, fiziksel olarak laboratuvar ortamında yapılan deneylerin, sayısal modellerle de başarılı bir şekilde yapılabileceği, deneysel olarak akım

ile bazı özelliklerin özel ekipmanlar gerektirmesinin aksine sayısal modellemelerin bu verileri kolayca elde edilme imkânı vermesinden dolayı tercih edilmesinin mümkün olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Baines PG. Topographic effects in stratified flows: Cambridge university press; 1997.
- [2] Baines PG, Whitehead J. On multiple states in single-layer flows. *Physics of fluids*. 2003;15(2):298-307.
- [3] Defina A, Susin FM. Stability of a stationary hydraulic jump in an upward sloping channel. *Physics of Fluids*. 2003;15(12):3883-5.
- [4] Defina A, Susin FM, Viero DP. Bed friction effects on the stability of a stationary hydraulic jump in a rectangular upward sloping channel. *Physics of fluids*. 2008;20(3):036601.
- [5] Park JH, Park YS, Do Kim Y, Chae DS. An experimental study on water surface profiles of high Froude number flows. *KSCE Journal of Civil Engineering*. 2018;22(8):2864-70.
- [6] İşcen BN, Öktem N, Yılmaz B, Aydın İ. Sığ akım denklemlerinin hidrolikte kullanılması üzerine değerlendirmeler. *Teknik Dergi*. 2017;28(1):7747-64.
- [7] Şimşek O, Soydan NG, Gümüş V, Aköz MS, Kırkgöz MS. Ani Bir Düşüdeki B-tipi Hidrolik Sıçramanın Sayısal Modellenmesi. *Teknik Dergi*. 2015;26(4):7215-40.
- [8] Gumus V, Simsek O, Soydan NG, Akoz MS, Kırkgöz MS. Numerical modeling of submerged hydraulic jump from a sluice gate. *Journal of*

- irrigation and drainage engineering. 2016;142(1):04015037.
- [9] Soydan NG, Aköz MS, Şimşek O, Gümüş V. Trapez Kesitli Geniş Başlıklı Savak Akımının ke Tabanlı Türbülans Modelleri ile Sayısal Modellenmesi. Çukurova Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi. 2012;27(2):47-58.
- [10] Gümüş V, Aköz MS, Kırkgöz MS. Kapak mansabında batmış hidrolik sıçramanın deneysel ve sayısal modellenmesi. Teknik Dergi. 2013;24(117).
- [11] Yakhot V, Orszag S, Thangam S, Gatski T, Speziale C. Development of turbulence models for shear flows by a double expansion technique. Physics of Fluids A: Fluid Dynamics. 1992;4(7):1510-20.
- [12] Simsek O, Akoz MS, Soydan NG. Numerical validation of open channel flow over a curvilinear broad-crested weir. Progress in computational fluid dynamics, an international journal. 2016;16(6):364-78.
- [13] Gümüş V, Şimşek O. Eğimli Açık Kanal Akımının Farklı Türbülans Modelleri ile Sayısal Modellemesi. Çukurova Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi. 2015;30(2):41-54.
- [14] Hirt CW, Nichols BD. Volume of fluid (VOF) method for the dynamics of free boundaries. Journal of computational physics. 1981;39(1):201-25.
- [15] ANSYS I. ANSYS FLUENT Theory Guide, United States: ANSYS. Inc; 2012.
- [16] Roache PJ. Quantification of uncertainty in computational fluid dynamics. Annual review of fluid Mechanics. 1997;29(1):123-60.
- [17] Roache PJ. Verification and validation in computational science and engineering: Hermosa Albuquerque, NM; 1998.
- [18] Aydin MC. CFD simulation of free-surface flow over triangular labyrinth side weir. Advances in Engineering Software. 2012;45(1):159-66.
- [19] Ali MSM, Doolan CJ, Wheatley V, editors. Grid convergence study for a two-dimensional simulation of flow around a square cylinder at a low Reynolds number. Seventh International Conference on CFD in The Minerals and Process Industries (ed PJ Witt & MP Schwarz); 2009.
- [20] Aköz MS, Şimşek O, Soydan NG. Numerical Modeling of Interaction of Turbulent Flow with a Buried Circular Cylinder on a Plane Surface. Teknik Dergi. 2019;30(6):1-25.
- [21] Kırkgöz MS, Ardiçlioğlu M. Velocity profiles of developing and developed open channel flow. Journal of Hydraulic Engineering. 1997;123(12):1099-105.
- [22] Huang P, Bradshaw P, Coakley T. Skin friction and velocity profile family for compressible turbulentboundary layers. AIAA journal. 1993;31(9):1600-4.



GNP katkılı Hibrit PVB-TEOS Nanofiberlerin Üretimi ve Karakterizasyonu

Adem YAR^{1*}

¹ Bingöl Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, Bingöl, Türkiye
Adem YAR ORCID No: 0000-0002-1432-9590

*Sorumlu yazar: ademyar@bingol.edu.tr

(Alınış: 25.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Nanofiber,
Polivinil bütral (PVB),
Elektro-eğirme yöntemi,
Tetraetil ortosilikat (TEOS)

Öz: Polivinil bütral (PVB)/Tetraetil ortosilikat (TEOS) ve PVB/TEOS/ Grafen nanoplatelet (GNP) nanofiberler elektro eğirme yöntemi ile sentezlenmiş ve homojen, boncuksuz bir morfoloji sergilemiştir. PVB, silika bazlı nanofiberler içerisindeki kusurların azalmasını sağlayan öncü polimer olarak kullanılmıştır. PVB/TEOS nanofiberlerin çapları 150-500 nm arasında değişmektedir. PVB/TEOS ve PVB/TEOS/GNP nanofiberlerin yapıları ve morfolojileri termogravimetrik analizör (TGA), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri ile incelenmiştir. Analizler, elde edilen nanofiberlerin doku mühendisliği, ilaç salınımı, kanser teşhisi, batarya, sensör ve hava filtresi gibi uygulamalarda nanomalzeme olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Fabrication and Characterization of GNP doped Hybrid PVB-TEOS Nanofibers

101

Keywords

Nanofiber,
Polyvinyl butyral (PVB),
Electrospinning method,
Tetraethyl orthosilicate (TEOS)

Abstract: PVB/TEOS and PVB/TEOS/GNP (Graphene Nanoplatelet) nanofibers have been synthesized via electrospinning method and exhibit a homogeneous and bead-free morphology. Polyvinyl butyral (PVB) was used as precursor polymer that allows the silica-based nanofiber to diminish of flaws. The average diameter of PVB/TEOS (Tetraethyl orthosilicate) nanofiber ranged from 150 to 500 nm. Structures and morphologies of the PVB/TEOS and PVB/TEOS /GNP nanofibers were examined by Thermogravimetric Analyzer (TGA), Fourier Transform Infrared spectrometer (FTIR) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The results demonstrate that the obtained nanofibers can be used as nanomaterials for a wide variety of applications such as tissue engineering, drug delivery, cancer diagnosis, battery, sensors and air filter.

1. GİRİŞ

Ana Organik-inorganik hibrit malzemeler inorganik fazın termal, kararlılık, rijitlik gibi özellikleriyle organik fazın esneklik, işlenebilirlik, süneklik gibi özelliklerini birleştirdiği için kaplama, biyoteknoloji, ağır metallerin giderimi ve sensör gibi alanlarda kullanım açısından oldukça büyük bir öneme sahip olmaktadır [1, 2]. Bununla birlikte gelişmiş termal ve mekanik özelliklere sahip silika hibrit malzemeler iyi bir esneklik, optiksel saydamlık, su içerisinde kolay bir şekilde dağılım gibi özellikler sergilemektedir. Bu özelliklerinden dolayı kataliz [3], adsorbsiyon [4], pervaporasyon [5, 6], sensörler [7] ve enzim kapsülleme [8] gibi çeşitli uygulamalarda büyük bir dikkat çekmektedir. Ayrıca silika malzemeler metal katalizörleri desteklemek için de kullanılmaktadır. Çünkü silika malzemelerin nanometre boyutunda ve tüp şeklinde bir yapıya sahip olması yüzey alanının artmasını sağlamaktadır ve bu nedenle katalizör

uygulamalarında öngörülmeleyen iyileşmelere olanak vermektedir. Aynı zamanda işlevselleştirilmiş mezoporoz silikalar da çift bazlı malzemeler olarak geliştirilme potansiyeline sahip olabilmektedir [9-12].

Polimer-silika hibrit malzemeler yüksek yüzey alanına sahip nano elyaf yapılarına dönüştürülerek bu malzemelerin kullanım alanları daha da artmaktadır [1, 4, 13]. Polimer-silika hibrit nano elyaflarını sentezlemek için geliştirilen çeşitli yaklaşımlar arasından elektro-eğirme prosesi basit, ucuz ve hızlı olmasından dolayı büyük bir ilgi görmektedir [14-16]. Bu proses elektrostatik alan etkisi altında viskoz bir polimer sıvısından çok ince lifler çeken bir teknik olarak bilinmektedir. Bu teknik ile elde edilen lifler yüksek yüzey alan/hacim oranına sahip olmasından dolayı membran teknolojisi, ilaç dağıtım sistemleri, elektronik, sensör ve enzim immobilizasyonu gibi uygulamalarda kullanılmaktadırlar [10, 17-19]. Ayrıca, sol-jel prosesi ve elektro-eğirme yönteminin birleştirilmesi ile düzgün

morfoloji, boyut ve bileşime sahip tek boyutlu nanoyapılar kolay bir şekilde sentezlenmektedir [20]. Genellikle, sol-jel yöntemi monolitler, tozlar, tüpler ve fiberler gibi formlarda çeşitli silika bazlı malzemeler hazırlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır [21-25]. Bu yöntem ile hazırlanan çözelti solüsyonunun bileşimine ve reaksiyon koşullarına bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. İlaveten, silika bazlı nanofiberler ya viskoz bir çözelti jelinden ya da kuru eğirme yoluyla Tetraetil ortosilikat (TEOS) bazlı çözelti maddelerinden elde edilmektedir [26, 27]. Ayrıca TEOS, PVB polimeriyle kolay bir şekilde karışmaktadır ve bundan dolayı PVB polimeri tercih edilmektedir. PVB ise toksik olmayan, kokusuz ve çevre dostu bir polimer olup ve birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda inorganik malzemelerle iyi uyumluluğu nedeniyle PVB, organik/inorganik hibrit kompozitlerin üretimi için mükemmel bir organik bileşik olarak görülmektedir [28].

Bu çalışmada inorganik malzemelerin polimer içerisinde kolay bir şekilde dağıtılması ile boncuksuz nanofiberlerin üretimi gerçekleştirildi. PVB/TEOS solüsyonu homojen bir şekilde etanol içerisinde belirli bir sıcaklıkta hazırlandı ve daha sonra elektro- eğirme prosesiyle homojen ve düzgün nanofiberlerin üretimi gerçekleştirildi. PVB polimerine TEOS ilave edilerek elektro-eğirme yöntemiyle elde edilen nanofiberlerin yapısal özellikleri incelendi. Bunun yanı sıra PVB/TEOS solüsyonuna GNP eklenmesi ile morfoloji ve termal kararlılığında meydana getirdiği değişimler SEM, FTIR ve TGA analizleriyle incelendi. Ayrıca, GNP ilave edilmesiyle homojen ve boncuksuz bir yapının nasıl elde edildiği ve termal kararlılığın neden düştüğü açıklandı. Aynı zamanda bu çalışmanın amacı nanoparçacıkların nanofiberler ile etkileşimini artırarak sensör, ağır metallerin adsorpsiyonu, filtre gibi uygulama alanlarına olanak sağlamaktır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada kullanılan GNP Nanografi Türkiye'den temin edildi. GNP'ler %99.5 saflıkta olup 150 m²/g yüzey alanına sahiptirler. Kalınlığı ise 6 nm olup çapı 5µm'dir.

Elektro-eğirme yönteminde kullanılan PVB polimeri Sigma-Aldrich firmasından satın alındı. PVB'nin moleküler ağırlığı 40000- 70000 g/mol arasındadır. PVB polimerin camsı geçiş sıcaklığı 72-78 °C arasında iken erime sıcaklığı 165-185 °C arasında değişmektedir. Homojen bir şekilde polimer solüsyonunun hazırlanması bu özelliklere bağlıdır. Aynı zamanda TEOS ve etanol Sigma-Aldrich firmasından satın alındı. Soyma kumaşı 83 g/m² ağırlığında olup pürüzlü bir yapıya sahiptir. Aynı zamanda çok sıkı dokunmuş naylon esaslı ve silikon kaplı bir yapıya sahiptir.

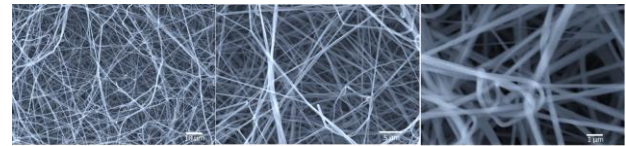
Polimer solüsyonunun spinlenebilmesi açısından polimer konsantrasyon oranı önemli bir faktör olup nanofiberlerin yapısal ve morfolojik özelliklerini etkilemektedir. Bu nedenle elektro-eğirme prosesi için PVB polimer konsantrasyon oranı optimize edildi. Daha

sonra PVB polimer solüsyonu ağırlıkça %10 olacak şekilde etanol içerisinde 50°C'de 4 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı [29, 30]. Polimer solüsyonunun karıştırılması sırasında polimer miktarına göre %50 oranında TEOS ilave edilip karışım homojen ve stabil hale gelene kadar karıştırıldı. Hazırlanan TEOS katkılı PVB polimer solüsyonu steril şırınga içerisine transfer edildi ve otomatik şırınga pompası üzerine yerleştirildi. Toplayıcı ve metalik iğne ucu arasındaki mesafe 15 cm olacak şekilde ayarlandı. PVB polimer solüsyonunun akış hızı 0.85 mL/h olarak ve diğer bir parametre olan voltaj ise 25 kV olarak belirlendi. Homojenliği sağlaması açısından toplayıcı olarak silindirik mandrel seçilip üzerine kompozit malzeme üretiminde kullanılan soyma kumaşı sarılarak nanofiberlerin toplanması sağlandı. Nanofiberlerin toplanması esnasında silindirik mandrel hızı 400 rpm olarak belirlendi. Toplanan fiberleri kolay bir şekilde soyabilmek için soyma kumaşı tercih edildi. Nanofiberlerin üretimi bu parametrelerde gerçekleştirilerek biriktirildi. Hazırlanan nanofiberler etüvde 40 °C'de 30 dakika bekletildi. Aynı yöntem ve parametrelerde %1 ve %3 [31, 32] oranında GNP katkılı TEOS/PVB nanofiberlerin üretimi gerçekleştirildi. Öncelikle bu numuneler hazırlanırken GNP'ler etanol içerisinde 10 dk boyunca düşük frekanslarda (15kHz) ultrasonik prob yardımıyla homojen bir şekilde dağıtıldıktan sonra PVB polimeri ve TEOS ilave edilerek solüsyonlar hazırlandı. Böylece PVB/TEOS, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiber keçeler elde edildi.

Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen PVB/TEOS, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiberlerin morfolojik özellikleri SEM cihazı ile (ZEISS Evo LS 10) incelendi. GNP, TEOS ile PVB polimer arasındaki bağların titreşiminden faydalanılarak bağ oluşup oluşmadığı FTIR analizi yapılarak incelendi. Elde edilen nanofiberlerin termal özellikleri ise TGA analizleri yapılarak belirlendi.

3. BULGULAR

Saf haldeki PVB nanofiberlerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri Şekil 1'de gösterilmiştir.



PVB

Şekil 1. Saf PVB nanofiberlerin SEM görüntüleri

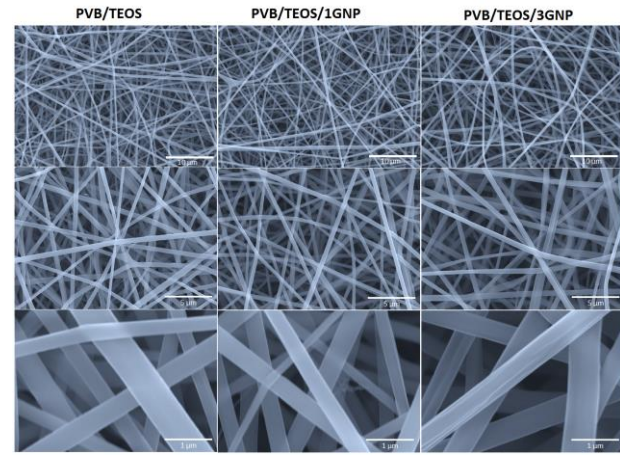
Elde edilen nanofiberlerin boncuksuz bir yapıda olduğu ve çaplarının 150-400 nm arasında değiştiği gözlenmiştir. Ayrıca bazı fiberlerin kesintili olduğu görülmektedir. Bu durumun elektro-eğirme esnasında meydana gelen Taylor konisinin kesintiye uğramasından dolayı olduğu söylenebilir. Aynı zamanda görüntülerden elde edilen nanofiberlerin homojen ve girift halde olduğu anlaşılmaktadır.

Şekil 2’de elektro-eğirme yöntemiyle üretilen PVB/TEOS, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiberlerin farklı büyüklüklerdeki morfolojilerine ait SEM görüntüleri verilmiştir. SEM görüntülerine bakıldığında nanofiberlerin homojen ve boncuksuz bir yapıda olduğu anlaşılmaktadır. Parametreler optimize edildikten sonra PVB/TEOS, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiberlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Nanofiber üretimi süresince kullanılan çözücünün hızlı bir şekilde buharlaşması fiber oluşumunu hızlandırırken meydana gelen nanofiberlerin daha düşük kristalli bir yapıda olmasına neden olmaktadır. Başka bir ifadeyle hızlı katılma ve çözücünün buharlaşması polimerin yapısındaki kristalizasyon yapısını azaltarak polimerin zincir yönlenmesini etkilememektedir [33].

PVB/TEOS nanofiberlerin SEM görüntülerine bakıldığında homojen ve boncuksuz bir yapıya sahip olduğu ve nanofiberlerin çapları 150-500 nm arasında değiştiği görülmektedir. PVB polimerinin uzun zincirli bir yapıya sahip olması homojen ve boncuksuz bir yapının oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Polimer solüsyonunun konsantrasyon oranı arttığında polimer zincir sarmal yapıların yüksek olmasından dolayı viskozite artmakta ve buna bağlı olarak da PVB/TEOS nanofiberleri uniform bir yapı sergilemektedir. Ancak viskozitenin artması nanofiberlerin iletkenliğini azaltmaktadır. Yüksek viskoziteli çözücü iyon difüzyonunu engelleyerek iletkenliği azaltmaktadır [34]. Çözelti iletkenliği elektro-eğirme prosesinde temel parametrelerden biridir. Çünkü viskoz polimer çözeltisi yüzeydeki mevcut olan yüklerin iletilmesinden dolayı uzayarak gerilir ve daha fazla solüsyon daha fazla yük iletkenliğinde taşınabilir [35]. Ayrıca, uzun moleküler zincire sahip olan PVB polimeri solüsyona ilave edildiğinde hem TEOS hem de PVB polimerinde silanol gruplarının (Si-OH) çapraz yoğunlaştırılması yoluyla kovalent bağlar oluşturarak daha küçük silika sol molekülleri ile sarmal bir yapı oluşturma eğilimindedir [36].

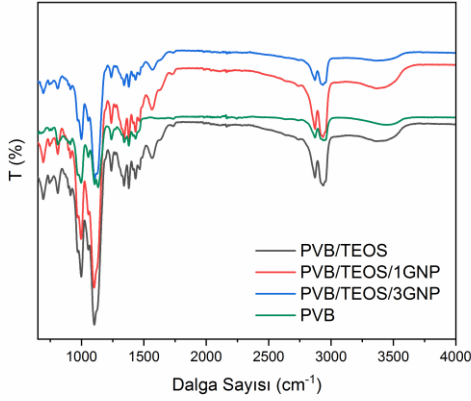
Viskozitenin dışında çözeltinin yüzey gerilimi ve iletkenliği elektro-eğirme yapma kabiliyetini belirlemektedir. Çözeltinin yüksek yüzey gerilimine sahip olması nanofiberlerin boncuksuz bir yapı oluşturmaya yol açar. TEOS-PVB çözeltilerinin yüzey gerilimi PVB içeriğiyle ilgilidir. PVB içeriğinin artmasıyla birlikte çözeltilerin yüzey gerilimi de artmaktadır. SEM görüntülerine bakıldığında nanofiberlerin homojen olduğu ve boncuksuz yapı oluşmadığı görülmektedir. Daha yüksek bir PVB yüzdesinin ve GNP’nin neden olduğu iletkenlikteki artış Raileigh kararsızlığın azaltılmasında önemli bir rol oynamakta ve yüzey gerilimdeki artışa rağmen boncuksuz nanofiberlerin oluşumunu kolaylaştırdığı görülmektedir. PVB/TEOS solüsyonuna %1 ve % 3 oranında GNP ilave edilmesiyle nanofiber morfolojisi benzer özellik göstermekte ve nanofiber çapları 150-400 nm arasında değişmektedir. Nanofiberlerin homojen bir yapıda olması GNP’lerin solüsyonun iletkenliğini artırarak jet oluşumu esnasındaki kararsızlığı azaltmasından dolayıdır. Çünkü GNP’ler yüksek elektrik

iletkenliği, yüksek modül, spesifik yüzey alanı ve yük aktarım kapasitesi gibi önemli özelliklere sahiptir [37].



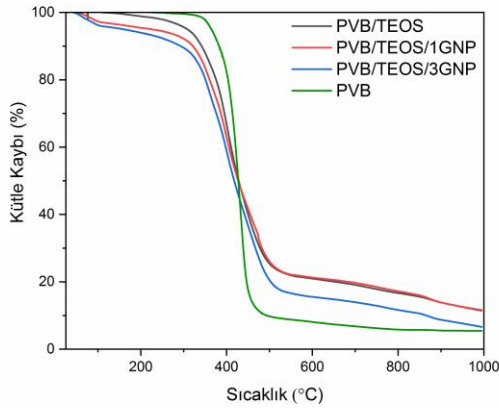
Şekil 2. PVB/TEOS, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiberlerin SEM görüntüleri

Nanofiberleri oluşturan PVB, TEOS ve GNP arasındaki bağ etkileşimlerini incelemek için Şekil-3’de gösterilen FTIR spektrum analizi gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumları incelendiğinde GNP katkılı nanofiberlerin spektrumları ile TEOS katkılı nanofiberlerin spektrumları birbiriyle kıyaslandığında yeni piklerin oluşmadığı veya kaybolmadığı anlaşılmaktadır. Aynı zamanda GNP/TEOS ilavesinin polimer malzemeyle herhangi bir bağ oluşumu olmadığı görülmekte ve gerçekleşen FTIR analizlerinde GNP ve TEOS ilavelerinin katkı yapılmasıyla pik şiddetlerinde değişimler, dalga sayılarında az da olsa değişikliklerin olduğu görülmektedir. Ancak % 1 oranında GNP’nin polimere katkı yapılması ile PVB/TEOS nanofiberlerin pik şiddetine nazaran bir artış meydana geldiği ve GNP miktarının artmasıyla birlikte pik şiddetinde bir azalma meydana geldiği görülmektedir. Çünkü GNP miktarının artmasıyla birlikte polimer konsantrasyon oranını da artmaktadır. Bundan dolayı amorf bir yapı meydana gelmiştir. Amorf yapının meydana gelmesi pik şiddetinin düşmesine yol açmaktadır. 800 ve 957 cm^{-1} dalga sayısındaki piklerin varlığı sırasıyla Si-O-Si ve Si-OH bağlarını göstermektedir [38]. 1000 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (C-H) bağlanmalarını, 1050 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (Si-O-Si) bağlanmalarını [38, 39], 1132 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (C-O-C) bağlanmalarını, 1276 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (Si-CH₃) [40], 1350 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (-CH₂) bağlarını, 2874 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (C-H) bağlarını, 2950 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler (-CH, -CH₂) bağlarını, göstermektedir. FTIR spektrum analizi incelendiğinde dalga sayısında da kaymaların meydana geldiği görülmektedir. Bunun nedeni GNP’lerin nanofiber içerisinde olduğu ve polimer yapıyla hidrojen bağları oluşturduğu anlaşılmaktadır. 3430 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler -OH bağlanmalarını temsil etmektedir [41].



Şekil 3. Üretilen nanofiberlerin FTIR spektrumları

PVB/TEOS, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiberlerin termal bozulma davranışlarını ölçmek için TGA analizleri kullanılmıştır. Analizler N_2 atmosferi altında $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ ısıtma hızı ile $25\text{ }^\circ\text{C}$ 'den $1000\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye kadar gerçekleştirilmiştir. PVB/TEOS nanofiberin iki aşamada ayrıştığı TGA analizinden anlaşılmaktadır. Şekil 4. incelendiğinde $300\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklığa kadar kütle kaybının düşük olduğu bu sıcaklık değerinden sonra $500\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklığa kütle kaybının yüksek olduğu görülmektedir. İlk aşamada hidroksil gruplarının 200 ile $330\text{ }^\circ\text{C}$ arasındaki sıcaklıklarda parçalanması ve sonraki aşamada ise $350\text{ }^\circ\text{C}$ 'den yüksek sıcaklıklarda bütiralin ayrışması gerçekleşmektedir. PVB'nin azot atmosferi içerisindeki termal bozulması suyun ve bütanalın salınmasına neden olmaktadır. Asetat gruplar $390\text{ }^\circ\text{C}$ 'den yüksek sıcaklıklarda serbest kalmaktadır.



Şekil 4. Üretilen nanofiberlerin termogravimetrik analizleri (TGA)

PVB'nin ısıl bozulmasından sonra karbon kalıntıları geride bırakılmıştır. Nanofiberler, azot atmosferinde bozulmayan karbon atıkları ve grafen nanoplateleri içermektedir. PVB'nin parçalanmasındaki temel bozulma basamağı, bütiralin ortadan kaldırılarak bütanalın oluşma sürecini kapsamaktadır [42, 43]. TGA analizinde bütiral halkalarının ayrışma sıcaklığı $350\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir. TGA termografisinden, PVB/TEOS/1GNP ve PVB/TEOS/3GNP nanofiberlerin 200 - $300\text{ }^\circ\text{C}$ arasında daha düşük termal kararlılığa sahip oldukları görülmektedir. Kullanılan çözücünün hacmi GNP miktarının artmasıyla artış gösterdiği ve nanofiberlerin oluşumu esnasında çözücünün tamamen buharlaşmamış

olması olabilir. PVB zincirlerine ve hidrojen bağlarından dolayı grafenlerin polar fonksiyonel gruplarına adsorbe edilen nanofiber içerisindeki hapsedilmiş çözücünün yavaş yavaş nanofiberden difüze edilmesi ve buharlaştırılması termal kararlılığın düşmesine neden olabilir.

4. SONUÇ

Ekonomik olarak uzun ve sürekli nanofiberlerin üretimi elektro-eğirme tekniğini önemli hale getirmektedir. En azından bu teknikte elde edilen nanofiberler birçok uygulama alanında kullanılmaktadırlar. Bu çalışmada, PVB polimer içerisine TEOS ve GNP katkılanarak elektro-eğirme tekniğiyle nanofiberlerin elde edilmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. TEOS'un polimer içerisine ilave edilmesiyle PVB'nin çapraz bağlanması gerçekleştirilerek TEOS/PVB nanofiber homojen bir şekilde elde edilmiştir. TEOS ve GNP ilavesinin çözeltinin viskozitesine ve iletkenliğine etki etmesi sonucunda nanofiber morfolojisinin yapısında değişimler gözlemlenmiştir. Elde edilen nanofiber boncuksuz, homojen yapıda olduğu ve nanofiberlerin ortalama çapları 150 - 500 nm arasında değişmekte olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca FTIR ve TGA analizleri yapılarak nanofiberlerin bağ etkileşimleri ve termal kararlılıkları incelenmiştir. FTIR analizine göre ilave edilen malzemelerin pik şiddetlerinde değişime neden olurken TGA analizinde ise termal kararlılığa olumsuz yönde etki ettiği görülmüştür. Elde edilen nanofiberler kompozit malzemelerin ara tabakasında, sensör uygulamalarında kullanılmak üzere daha birçok alanda uygulanma potansiyeline sahiptirler.

KAYNAKLAR

- [1] Shao CL, Kim HY, Gong J, Ding B, Lee DR, Park SJ. Fiber mats of poly(vinyl alcohol)/silica composite via electrospinning. *Mater Lett.* 2003;57(9-10):1579-84.
- [2] Zou H, Wu SS, Shen J. Polymer/silica nanocomposites: Preparation, characterization, properties, and applications. *Chem Rev.* 2008;108(9):3893-957.
- [3] Larsen G, Velarde-Ortiz R, Minchow K, Barrero A, Loscertales IG. A method for making inorganic and hybrid (organic/inorganic) fibers and vesicles with diameters in the submicrometer and micrometer range via sol-gel chemistry and electrically forced liquid jets. *J Am Chem Soc.* 2003;125(5):1154-5.
- [4] Wu SJ, Li FT, Wu YN, Xu R, Li GT. Preparation of novel poly(vinyl alcohol)/SiO₂ composite nanofiber membranes with mesostructure and their application for removal of Cu²⁺ from waste water. *Chem Commun.* 2010;46(10):1694-6.
- [5] Kulkarni SS, Kittur AA, Aralaguppi MI, Kariduraganavar MY. Synthesis and characterization of hybrid membranes using poly(vinyl alcohol) and tetraethylorthosilicate for the pervaporation separation of water-isopropanol mixtures. *J Appl Polym Sci.* 2004;94(3):1304-15.
- [6] Li J, Suo JP, Deng RZ. Structure, Mechanical, and Swelling Behaviors of Poly(vinyl alcohol)/SiO₂

- Hybrid Membranes. *J Reinf Plast Comp.* 2010;29(4):618-29.
- [7] Chen LJ, Liao JD, Lin SJ, Chuang YJ, Fu YS. Synthesis and characterization of PVB/silica nanofibers by electrospinning process. *Polymer.* 2009;50(15):3516-21.
- [8] Patel AC, Li SX, Yuan JM, Wei Y. In situ encapsulation of horseradish peroxidase in electrospun porous silica fibers for potential biosensor applications. *Nano Lett.* 2006;6(5):1042-6.
- [9] Cannas C, Mainas M, Musinu A, Piccaluga G. ZnO/SiO₂ nanocomposites obtained by impregnation of mesoporous silica. *Compos Sci Technol.* 2003;63(8):1187-91.
- [10] Loureiro SM, Ramos ML, Manoharan M. High temperature nanocomposite through engineered synthesis of hafnia nano-dispersoids in hexagonal mesoporous silica. *J Am Ceram Soc.* 2005;88(4):1072-5.
- [11] Nagano T, Fujisaki S, Sato K, Hataya K, Iwamoto Y, Nomura M, et al. Relationship between the mesoporous intermediate layer structure and the gas permeation property of an amorphous silica membrane synthesized by counter diffusion chemical vapor deposition. *J Am Ceram Soc.* 2008;91(1):71-6.
- [12] Zhao MW, Kang WP, Zheng LQ, Gao YA. Synthesis of silica nanoboxes via a simple hard-template method and their application in controlled release. *Mater Lett.* 2010;64(8):990-2.
- [13] Ji LW, Zhang XW. Ultrafine polyacrylonitrile/silica composite fibers via electrospinning. *Mater Lett.* 2008;62(14):2161-4.
- [14] Greiner A, Wendorff JH. Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibres. *Angew Chem Int Edit.* 2007;46(30):5670-703.
- [15] Li D, Xia YN. Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel? *Adv Mater.* 2004;16(14):1151-70.
- [16] Saquing CD, Manasco JL, Khan SA. Electrospun Nanoparticle-Nanofiber Composites via a One-Step Synthesis. *Small.* 2009;5(8):944-51.
- [17] Bhardwaj N, Kundu SC. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv.* 2010;28(3):325-47.
- [18] Gopal R, Kaur S, Ma ZW, Chan C, Ramakrishna S, Matsuura T. Electrospun nanofibrous filtration membrane. *J Membrane Sci.* 2006;281(1-2):581-6.
- [19] Qi HX, Hu P, Xu J, Wang AJ. Encapsulation of drug reservoirs in fibers by emulsion electrospinning: Morphology characterization and preliminary release assessment. *Biomacromolecules.* 2006;7(8):2327-30.
- [20] Ramaseshan R, Sundarajan S, Jose R, Ramakrishna S. Nanostructured ceramics by electrospinning. *J Appl Phys.* 2007;102(11).
- [21] Burger C, Hsiao BS, Chu B. Nanofibrous materials and their applications. *Annu Rev Mater Res.* 2006;36:333-68.
- [22] Geltmeyer J, De Roo J, Van den Broeck F, Martins JC, De Buysser K, De Clerck K. The influence of tetraethoxysilane sol preparation on the electrospinning of silica nanofibers. *J Sol-Gel Sci Techn.* 2016;77(2):453-62.
- [23] Lu HB, Yin JY, Xu B, Gou JH, Hui D, Fu YQ. Synergistic effects of carboxylic acid-functionalized carbon nanotube and nafion/silica nanofiber on electrical actuation efficiency of shape memory polymer nanocomposite. *Compos Part B-Eng.* 2016;100:146-51.
- [24] Wang HK, Yang XM, Wu QZ, Zhang QB, Chen HX, Jing HM, et al. Encapsulating Silica/Antimony into Porous Electrospun Carbon Nanofibers with Robust Structure Stability for High-Efficiency Lithium Storage. *ACS Nano.* 2018;12(4):3406-16.
- [25] Zucker I, Dizge N, Fausey CL, Shaulsky E, Sun M, Elimelech M. Electrospun silica nanofiber mats functionalized with ceria nanoparticles for water decontamination. *RSC Adv.* 2019;9(34):19408-17.
- [26] Peltola T, Jokinen M, Veittola S, Rahiala H, Yli-Urpo A. Influence of sol and stage of spinnability on in vitro bioactivity and dissolution of sol-gel-derived SiO₂ fibers. *Biomaterials.* 2001;22(6):589-98.
- [27] Xu YD, Zhou WC, Zhang LT, Cheng LF. Spinnability and crystallizability of silica glass fiber by the sol-gel method. *J Mater Process Tech.* 2000;101(1-3):44-6.
- [28] Feller RL, Curran M, Colaluca V, Bogaard J, Bailie C. Photochemical deterioration of poly(vinylbutyral) in the range of wavelengths from middle ultraviolet to the visible. *Polym Degrad Stabil.* 2007;92(5):920-31.
- [29] Jahangiri S, Ozden-Yenigun E. The stability and dispersion of carbon nanotube-polymer solutions: A molecular dynamics study. *J Ind Text.* 2018;47(7):1568-83.
- [30] Weng BC, Xu FH, Garza G, Alcoutlabi M, Salinas A, Lozano K. The Production of Carbon Nanotube Reinforced Poly(vinyl) Butyral Nanofibers by the Forcspinning (R) Method. *Polym Eng Sci.* 2015;55(1):81-7.
- [31] Eskizeybek V, Yar A, Avci A. CNT-PAN hybrid nanofibrous mat interleaved carbon/epoxy laminates with improved Mode I interlaminar fracture toughness. *Compos Sci Technol.* 2018;157:30-9.
- [32] Kaynan O, Atescan Y, Ozden-Yenigun E, Cebeci H. Mixed Mode delamination in carbon nanotube/nanofiber interlayered composites. *Compos Part B-Eng.* 2018;154:186-94.
- [33] Papkov D, Zou Y, Andalib MN, Goponenko A, Cheng SZD, Dzenis YA. Simultaneously Strong and Tough Ultrafine Continuous Nanofibers. *ACS Nano.* 2013;7(4):3324-31.
- [34] Ruenraroengsak P, Florence AT. The diffusion of latex nanospheres and the effective (microscopic) viscosity of HPMC gels. *Int J Pharmaceut.* 2005;298(2):361-6.
- [35] Zheng JF, He AH, Li JX, Xu JA, Han CC. Studies on the controlled morphology and wettability of polystyrene surfaces by electrospinning or electrospraying. *Polymer.* 2006;47(20):7095-102.

- [36] Wei Y, Feng QW, Xu JG, Dong H, Qiu KY, Jansen SA, et al. Polymethacrylate-silica hybrid nanoporous materials: A bridge between inorganic and polymeric molecular sieves. *Adv Mater.* 2000;12(19):1448-50.
- [37] Wu XW, Mahalingam S, Amir A, Porwal H, Reece MJ, Naglieri V, et al. Novel Preparation, Microstructure, and Properties of Polyacrylonitrile-Based Carbon Nanofiber-Graphene Nanoplatelet Materials. *Acs Omega.* 2016;1(2):202-11.
- [38] Khan N, Kumar D, Kumar P. Microwave Assisted Synthesis of Polyvinylbutyral-silica Composites for Mercury Removal Application. *Chemistryselect.* 2019;4(6):1979-84.
- [39] Ananth A, Arthanareeswaran G, Mok YS. Effects of in situ and ex situ formations of silica nanoparticles on polyethersulfone membranes. *Polym Bull.* 2014;71(11):2851-61.
- [40] Wencel D, Dolan C, Barczak M, Keyes TE, McDonagh C. Synthesis, tailoring and characterization of silica nanoparticles containing a highly stable ruthenium complex. *Nanotechnology.* 2013;24(36).
- [41] Chaudhry AU, Mittal V, Mishra B. Inhibition and promotion of electrochemical reactions by graphene in organic coatings. *Rsc Adv.* 2015;5(98):80365-8.
- [42] Chuang YJ, Liao JD, Chen LJ. Polyvinylbutyral-assisted synthesis and characterization of mesoporous silica nanofibers by electrospinning route. *J Compos Mater.* 2012;46(2):227-36.
- [43] Hajian M, Reisi MR, Koohmareh GA, Jam ARZ. Preparation and characterization of Polyvinylbutyral/Graphene Nanocomposite. *J Polym Res.* 2012;19(10).



Türk Doğa ve Fen Dergisi

Turkish Journal of Nature and Science

www.dergipark.gov.tr/tdfd



Boyut İndirgeme Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Analizi

Mücahit ÇALIŞAN^{1*}, Muhammed Fatih TALU²

¹Bingöl Üniversitesi, Enformatik Bölümü, Bingöl, Türkiye

²İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye

Mücahit ÇALIŞAN ORCID No: 0000-0003-2651-5937

Muhammed Fatih TALU ORCID No: 0000-0003-1166-8404

*Sorumlu yazar: mcalisan@bingol.edu.tr

(Alınış: 21.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
Boyut indirgeme,
PCA,
LDA,
AE

Öz: Günümüz veritabanları hızlı bir şekilde büyümektedir. Örneğin Youtube'a her dakikada ortalama 300 saatlik video yüklenmektedir. Veri boyutuyla orantılı bir şekilde, işleme, depolama ve transfer maliyetleri artmaktadır. Buna karşılık, özellikle video ve imge gibi yüksek boyutlu veri içeriklerinin büyük oranda benzer olduğu bilinmektedir. Bu tür yüksek boyutlu ham verilerin, düşük boyutlara indirgenmesi, imge sınıflandırma, algılama ve anlamlı bilgi çıkarım prosesleri için hayati öneme sahiptir.

Veri boyutunu indirgeyen çok sayıda teknik mevcuttur. Klasik yapay öğrenme tekniklerinden; PCA (Temel Bileşenler Analizi) ve LDA (Doğrusal Ayırma Analizi), probleme matematiksel bir çözüm zemini kazandırdıkları için ön plana çıkarken, doğrusal olmayan tekniklerden, derin öğrenme yaklaşımlarından olan Oto-Kodlayıcı (Auto-Encoding), büyük verilerin indirgenmesine izin vermesi bakımından araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

Bu çalışmada, gerçek ve sentetik veriler (doğrusal ve doğrusal olmayan) kullanılarak PCA, LDA ve Auto-Encoding (AE) yöntemlerinin boyut indirgeme performansları incelenmiştir. Belirli kriterlerde (harcanan zaman, yeniden inşa etme doğruluğu vb.) alınan sonuçlar karşılaştırmalı bir şekilde sunulmuştur.

1

Comparative Analysis of Dimension Reduction Methods

Keywords
Dimension reduction,
PCA,
LDA,
AE

Abstract: Today's databases are growing rapidly. For example, Youtube uploads an average of 300 hours of video every minute. In proportion to the size of the data, processing, storage and transfer costs are increasing. On the other hand, it is known that high-dimensional data contents such as video and image are largely similar. Such high-dimensional raw data has a vital proposition for the reduction of images to low dimensions, image classification, detection and meaningful information extraction processes.

There are many techniques available to reduce data size. From classical artificial learning; PCA (Principal Components Analysis) and LDA (Linear Discriminant Analysis), while probing is at the forefront of gaining a mathematical solution, Autoencoder, which is one of the non-linear techniques and deep learning approaches, attracts researchers to allow the reduction of large data.

In this study, dimensional reduction performances of PCA, LDA and Auto-Encoding (AE) methods using real and synthetic data (linear and nonlinear) were investigated. The results obtained on certain criteria (time spent, correctness of reconstruction, etc.) are presented comparatively.

1. GİRİŞ

Yüksek boyutlu verilerin (sosyal medya verileri, konuşma sinyalleri, dijital fotoğraflar vb.) analizi birçok alanı kapsamaktadır. Veri boyutunun indirgenmesi analiz kolaylığını arttırmaktadır. Boyut indirgeme

yöntemlerinin temel amacı, veri içeriğindeki en asgari bir kayba karşılık boyutun maksimum küçültülmesidir.

Bunun için verinin asli bileşenlere izdüşümü yaklaşımı kullanılmaktadır. Başka bir deyişle, verinin önemli olmayan bileşenlerini tespit edip, kaldırmak ve boyutun düşmesini sağlamaktır. Boyut indirgeme ile yüksek boyutlu veri de bulunan bilgi içeriği daha az sayıda öz

nitelik ile temsil edilmektedir. Az sayıda öz nitelik ile sınıflandırma performanslarının yükselmesi hedeflenmektedir.

Bu çalışmada, doğrusal boyut azaltma tekniklerinden PCA [1],[2], LDA [3],[4] ve doğrusal olmayan boyut azaltma tekniklerinden Autoencoder yöntemleri incelenmiştir [5],[6]. Bu yöntemlerin performansları, literatürde sık kullanılan MNIST [7] veri kümesi (el yazısıyla yazılmış rakamlar) kullanılarak elde edilmiş, sınıflandırma doğrulukları ve hesaplama süreleri kıyaslanmıştır. Çalışmada kullanılan bu yöntemlerde MNIST veri tabanının tamamı kullanılmamıştır. MNIST veri setinin büyüklüğü düşünüldüğünde işlemlerin uzun sürmemesi için her sınıftan düşük sayıda örnek kullanılmıştır. Sınıflandırma işlemi için yapay sinir ağı yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca sentetik bir veri üzerinde de bu tekniklerin gözden geçirilmesi ve sistematik olarak karşılaştırılması sunulmuştur.

Yüksek boyutlu veriler ile çalışmak hesaplama zamanını arttırmaktadır. Bu veriler için öz temsillerin keşfi için makine öğrenmesi ve örüntü tanıma çalışmaları kullanılmaktadır. Bu işlem literatürde boyut indirgeme olarak karşımıza çıkmaktadır.

Boyut indirgeme teknikleri zaman serileri analizi [8], makine öğrenmesi [9], veri inceleme [10] ve biyometrik [11] gibi birçok uygulamada yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Zaman serileri ile ilgili veri tabanlarının boyutları genellikle çok büyüktür [8]. Uzun çalışmalar göz önüne alındığında, bu astronomik veri tabanları terabaytlar büyüklüğünde veri içermekte ve gün geçtikçe büyümeye devam etmektedirler. LM Bruce tarafından yapılan çalışmada hiperspektral sensörlerden devamlı ve farklı dalga boylarında alınan görüntülerin işlenmesi için çok fazla zaman ve işlem gücü gerektiği vurgulanmıştır [12]. Bu görüntülerdeki fazlalıkları azaltıp daha düşük boyutta veri kullanılarak sınıflandırma performansını arttırabilmek için boyut indirgeme tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu teknikler sayesinde öz nitelik uzayı iki ya da üç boyuta indirgenip bir monitör ile görüntüleme yapılabilmektedir. Nature dergisinde yayınlanan bir makalede [13] boyut küçültme algoritması kullanılarak tasarlanan derin öğrenme algoritmasının içerisindeki veri yapıları gösterilmiştir.

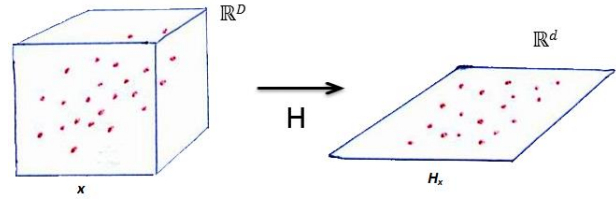
2. KULLANILAN BOYUT KÜÇÜLTME YÖNTEMLERİ

Makine öğrenimi ve model sınıflandırma uygulamaları için bir ön işlem basamağı olarak boyut azaltma teknikleri kullanılmaktadır. Bu tekniklerden doğrusal olarak PCA ve LDA ön plana çıkarken, doğrusal olmayan ve aynı zamanda bir derin öğrenme algoritması olan Autoencoder yöntemi öne çıkmaktadır.

Boyut azaltma şu şekilde tanımlanabilir; $n \times D$ boyutunda bir X matrisi olsun. Burada x_i ($i \in \{1, 2, \dots, n\}$). x_i , D boyutundaki X verisinin i . satırını temsil etmektedir. Yüksek boyuta sahip x_i 'nin düşük boyuttaki karşılığı y_i dir. y_i , d boyutundaki Y verisinin i . satırını temsil eder.

Şekil 1'de D boyutundaki bir verinin daha düşük boyuta sahip d boyutundaki temsili görülmektedir.

$$x_i \in \mathbb{R}^D \rightarrow y_i \in \mathbb{R}^d$$



Şekil 1. Yüksek boyutlu verinin düşük boyuta indirgenmesi

2.1. PCA

Bir verinin temel bileşenleri, verinin normalize edilmesinden sonra Kovaryans matrisinin öz değer ve öz vektörü hesaplanarak elde edilmektedir. Denklem 1'de verinin ortalama değeri, Denklem 2'de Kovaryans matrisi hesabı gösterilmektedir. m verinin boyutunu, C ise Kovaryans matrisini temsil etmektedir.

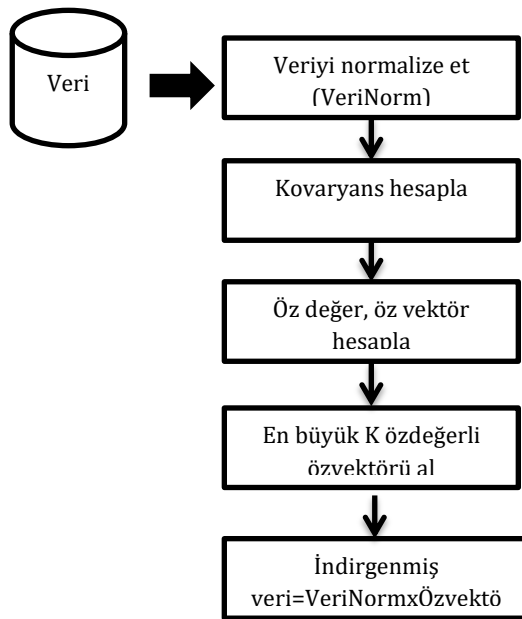
$$\bar{X} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m X_i \quad (1)$$

$$C = \sum_{i=1}^n (X - \bar{X})(X - \bar{X})^T \quad (2)$$

Kovaryans matrisin sırasıyla özdeğerleri (λ) ve özvektörleri (V) Denklem 3'de hesaplanmaktadır.

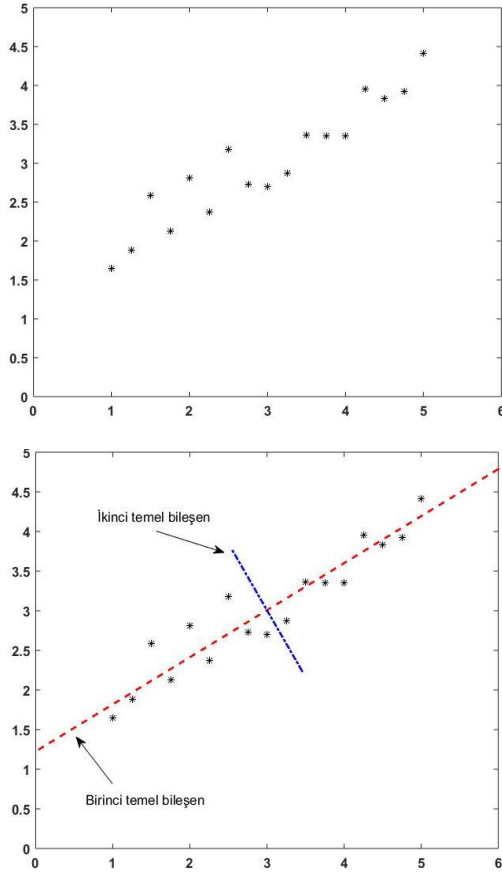
$$\det(\lambda I - C) = 0, \quad (\lambda_k I - C)xV_k = 0 \quad (3)$$

Özdeğerler büyükten küçüğe sıralanır ve en büyük özdeğerlere karşı gelen özvektörler bulunur. Normalleştirilmiş verinin K adet özvektör üzerine izdüşümü indirgenmiş veriyi üretir. Şekil 2'de PCA'nın akış diyagramı verilmiştir.



Şekil 2. PCA akış diyagramı

Şekil 3(a)'da üretilen iki boyutlu sentetik bir veri, 3(b)'de ise bu verinin iki temel bileşeni gösterilmektedir.



Şekil 3. PCA örneği (a) sentetik veri, (b) temel bileşenler

PCA algoritmasındaki K bileşen sayısının optimal değeri için aşağıdaki ilk K öz değer toplamının bütün özdeğer toplamına oranı 0.99 gibi yüksek olması beklenir. Şekil 4'de alınan bir görüntünün farklı K bileşen etkisinin çıktılarını gösterilmektedir.

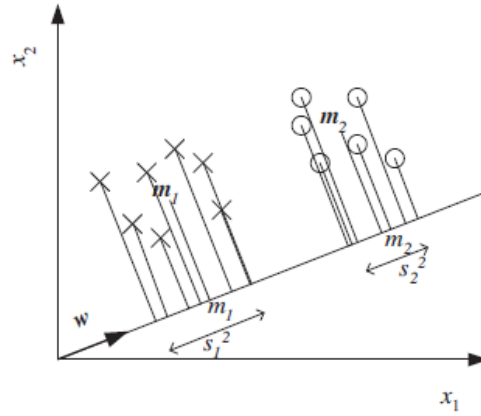
$$\frac{\sum_{j=1}^k \lambda_j}{\sum_{j=1}^n \lambda_j} \geq 0.99$$



Şekil 4. Yeniden inşa etmede K değişkeni (bileşen sayısı) etkisi. Orijinal görüntü $K = 20, 10$ ve 5 kullanılarak indirgenmiştir

2.2. LDA

LDA, sınıf bilgileri belirli olan verinin indirgenmesinde kullanılır ve sınıfları en iyi ayırtacak vektörleri arar [13]. Yöntemin rahatlıkla anlaşılması için, Şekil 5'de gösterilen iki boyutlu veriyi göz önüne alalım.



Şekil 5. İki boyutlu veri örneği

LDA, sınıflar arası uzaklığı $|m_1 - m_2|$ büyük, sınıf içi uzaklığı $(s_1^2 + s_2^2)$ küçük ister. Bu nedenle Denklem 4'deki maliyet fonksiyonunu maksimize eden w vektörünü bulmaya çalışır:

$$J(w) = \frac{(m_1 - m_2)^2}{s_1^2 + s_2^2} \quad (4)$$

m_1 ve m_2 sınıf ortalamalarını, s_1^2 ve s_2^2 sınıf varyanslarını temsil eder ve aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$m_1 = \frac{\sum_i w^T x_i y_i}{\sum_i y_i} = w^T M_1$$

$$m_2 = \frac{\sum_i w^T x_i (1 - y_i)}{\sum_i (1 - y_i)} = w^T M_2$$

$$s_1^2 = \sum_i (w^T x_i - m_1)^2 y_i$$

$$s_2^2 = \sum_i (w^T x_i - m_2)^2 (1 - y_i)$$

$(m_1 - m_2)^2$ ve $s_1^2 + s_2^2$ ifadelerinde w ayrışımı yapıldığında $J(w)$ maliyeti aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$(m_1 - m_2)^2 = (w^T M_1 - w^T M_2)^2 = w^T (M_1 - M_2)(M_1 - M_2)^T w = w^T \sum_M w$$

$$s_1^2 = \sum_i (w^T x_i - m_1)^2 y_i = \sum_i (w^T x_i - w^T M_1)^2 y_i = \sum_i w^T (x_i - M_1)(x_i - M_1)^T w y_i = w^T \sum_{S1} w$$

$$\sum_{S1} = \sum_i (x_i - M_1)(x_i - M_1)^T y_i$$

$$s_1^2 + s_2^2 = w^T (\sum_{S1} + \sum_{S2}) w = w^T \sum_S w$$

$$J(w) = \frac{w^T \sum_M w}{w^T \sum_S w} = \frac{|w^T (M_1 - M_2)|^2}{w^T \sum_S w}$$

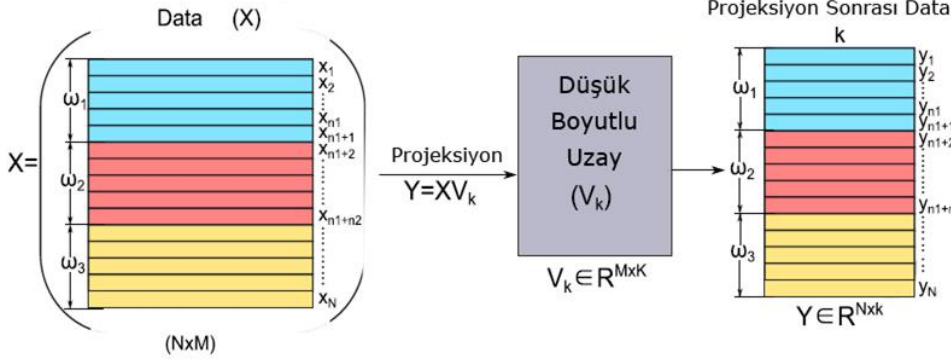
Burada $J(w)$ maliyet fonksiyonunun maksimum noktası w ya göre türevinin sıfıra eşit olduğu noktadır:

$$\frac{\partial J(w)}{\partial w} = 0 \rightarrow w = c \sum_S^{-1} (M_1 - M_2)^2$$

c katsayısı yön bilgisi içermediği için önemsiz bir sabittir.

Şekil 6'da, 3 sınıfta kümelenen N adet M boyutlu örüntüye sahip giriş verisinin LDA yöntemiyle k boyuta

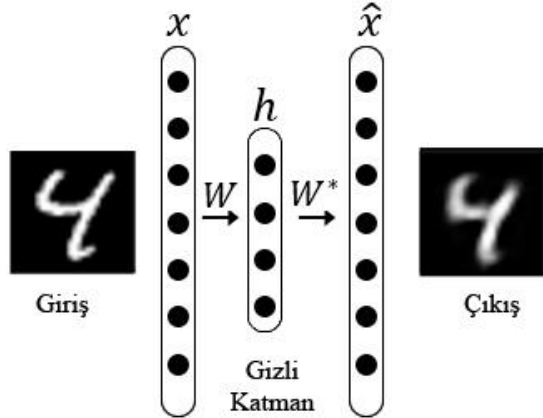
indirgenişi gösterilmektedir [14].



Şekil 6. Girdi örneklerinin (X) LDA'nın daha düşük boyutlu alanına (V_k) yansıtılması

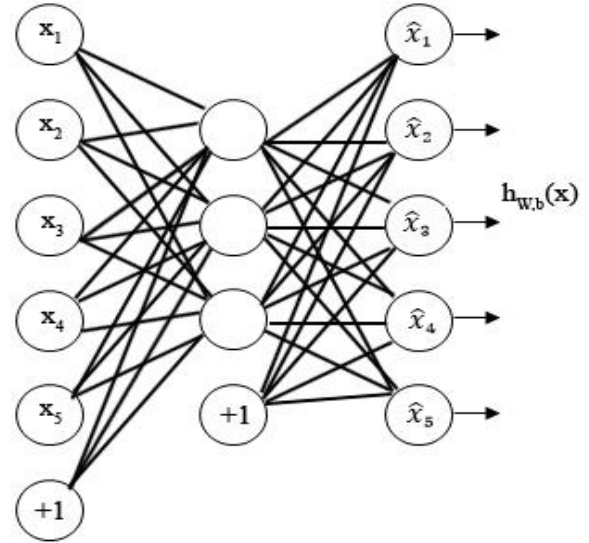
2.3. AE

AE eğiticiyiz bir yapay öğrenme tekniğidir. Temel olarak iki kısımdan oluşmaktadır: kodlayıcı ve çözücü. Bu model ileri beslemeli yapay sinir ağlarından ayrılan en önemli özellik, giriş veri seti (x) ile çıkış veri setinin (\hat{x}) benzer olması ve dolayısıyla çıktı katmanındaki nöron sayısının girdi katmanındaki nöron sayısına eşit olmasıdır. Şekil 7'de AE'nin çalışma prensibi gösterilmektedir.



Şekil 7. Oto-kodlayıcının çalışma prensibi

$y^{(i)} = x^{(i)}$ davranışını sergileyen bu eğiticiyiz yapay öğrenme mimarisi Şekil 8'de görülmektedir. Bu mimari $h_{w,b}(x) \approx x$ 'i öğrenmeye çalışır. Başka bir deyişle çıkış olan \hat{x} , giriş olan x 'e benzetilmeye çalışılır.



Şekil 8. Oto-kodlayıcı mimarisi

$y^{(i)} = x^{(i)}$ davranışını sergileyen bu eğiticiyiz yapay öğrenme tekniğinin amaç fonksiyonu Denklem 5'deki gibi tanımlanır;

$$\min_{W,b} J(W,b) = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m (x^{(i)} - y^{(i)})^2 \quad (5)$$

Optimum W, b parametrelerinin tespiti için j . gizli ünitenin aktivasyonu $a_j^{(2)}$ olarak tanımlanır. Ağa belirli bir x girişi verildiğinde gizli ünitenin ortalama aktivasyonunun açık ifadesi Denklem 6'da gösterilmektedir.

$$\hat{p}_j = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m [a_j^{(2)}(x^{(i)})] \quad (6)$$

m örüntü sayısıdır. Ortalama aktivasyon değerinin dışarıdan girilen ve seyreklik parametresi olarak adlandırılan p değerine eşit olması istenir. p genelde 0'a yakın (0.05 gibi) bir değer seçilir. Bunu başarmak için optimizasyon hedefine \hat{p} değerini p den saptırmak için bir ceza terimi (penalty term) eklenir. Ceza terimi için birçok seçenek mevcuttur. Oto-kodlayıcı mimarilerinde

en çok kullanılan ceza terimi Denklem 7'de gösterilmiştir;

$$\sum_{j=1}^{s_2} p \log \frac{p}{\hat{p}_j} + (1-p) \log \frac{1-p}{1-\hat{p}_j} \quad (7)$$

Denklemdaki s_2 , gizli katman nöron sayısını temsil etmektedir. Denklem 7'de yer alan ceza terimi Kullback-Leibler (KL) uzaklığı olarak bilinmektedir. KL uzaklığı birer Bernoulli rastgele değişkeni olan seyreklik parametresi p ve Denklem 6'da hesaplanan ortalama aktivasyon değeri \hat{p}_j arasındaki ilişki olarak tanımlanır. KL uzaklığı iki farklı dağılımın birbirine her noktadaki oranları alınarak bu oranların logaritmalarının alınmasıyla hesaplanır [15]. Böylece KL uzaklığı kullanılarak hesaplanan ceza terimi Denklem 8'de ki gibi yazılmaktadır;

$$\sum_{j=1}^{s_2} KL(p||\hat{p}_j) \quad (8)$$

Optimizasyon için kullanılan oto-kodlayıcı maliyet fonksiyonu iki terimin toplamından oluşur. Bunlar tek seviyeli standart yapay sinir ağı maliyeti ile KL uzaklığından gelen terimlerdir. KL'nin amaç fonksiyonundaki etkinlik değerini ayarlayan ve seyreklik değeri gibi dışarıdan girilen β değeri genelde 1-6 değerleri arasından seçilir. $W^{(1)}, b^{(1)}$ değerleri ise giriş ile gizli katman arasındaki yani kodlayıcı olarak adlandırılan kısımdaki ağırlık parametreleridir. Denklem 9'da oto-kodlayıcının toplam maliyet fonksiyonu gösterilmiştir.

$$J_{sparse}(W, b) = J(W, b) + \beta \sum_{j=1}^{s_2} KL(p||\hat{p}_j) \quad (9)$$

3. DENEYSEL SONUÇLAR

3.1. Kullanılan Veri Tabanları

Çalışmada gerçek ve sentetik verilerden oluşan farklı eğitim kümeleri kullanılmıştır. Gerçek veri kümesi olarak MNIST veri seti (elle yazılmış rakamlar) kullanılmıştır. MNIST veri seti 28×28 boyutlarında, gri seviyeli, 10 farklı rakama ait toplam 50000 eğitim ve 10000 test örneğinden oluşmaktadır. Bu veri tabanının seçilme sebebi, fazla sayıda ve çeşitte el yazısı rakamı içermesidir.

3.2. Deneysel Sonuçlar

MATLAB ortamında gerçekleştirilen uygulamalarda test sonuçları için birden fazla yineleme yapılmaktadır. Uygulamalarda PCA, LDA ve AE yöntemlerinin veri tabanları üzerindeki performansları sınıflandırma doğrulukları ve çalışma süresi açısından karşılaştırılmıştır. MNIST veri tabanındaki imgeler $28 \times 28 = 784$ uzunluğunda vektörler içermektedir. PCA ve LDA yöntemleri ile öznitelik vektörü boyutu farklı boyutlara indirgenmiş ve sınıflandırma sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. AE yönteminin gizli katman sayısı

(öznitelik vektör boyutu) ayarlanarak giriş bilgisinin çıkışta inşa edilmesi sağlanmıştır. Her üç yöntem kullanılarak elde edilen öznitelikler sınıflandırıcıya verilmiş ve ağırlık doğruluk oranları belirlenmiştir. Eğitim kümesindeki örnek sayısının yüksek olması ve eğitim zamanının uzaması nedeniyle, eğitim işlemi için 10000, test işlemi için 2000 örnek kullanılmıştır.

Tablo 1. PCA ve LDA'nın farklı özniteliklerdeki sınıflandırma doğrulukları ve harcanan zaman değerleri

Öznitelik Sayısı	Doğruluk(%)		Zaman (sn)	
	PCA	LDA	PCA	LDA
10	86	78.75	0.4341	0.7465
20	92.9	80.85	0.4452	0.7619
40	94.25	79.6	0.4492	0.7689
80	93.5	75.35	0.4565	0.7723
200	92.85	84.3	0.4784	0.7879

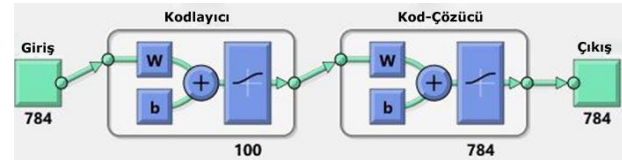
Yöntemlerin özellik sayılarına göre doğruluk ve çalışma süreleri Tablo 1'de verilmiştir. PCA ve LDA gibi doğrusal yöntemler çok hızlı bir sürede boyut indirgeme yapabilirken doğrusal olmayan AE yönteminin ise çok daha uzun sürede boyut indirgemeyi tamamladığı görülmektedir.

Yapılan son deneysel çalışma oto-kodlayıcının MNIST üzerindeki doğruluk ve zaman değerlerinin elde edilmesiyle ilgilidir. Tablo 2'de PCA ve Autoencoder yöntemlerinin doğruluk oranları verilmektedir.

Tablo 2. PCA ve AE'nin farklı özniteliklerdeki sınıflandırma doğrulukları

Öznitelik Sayısı / Ara katman hücre sayısı	Doğruluk(%)	
	PCA	AE
10	86	81.6
20	92.9	93.4
40	94.25	97.5
80	93.5	98.7
200	92.85	97.3

Şekil 9'da kullanılan oto-kodlayıcı mimarisi görülmektedir. Mimaride hücre sayıları sırayla 784, 100, 784 (giriş, orta, çıkış) şeklindedir.



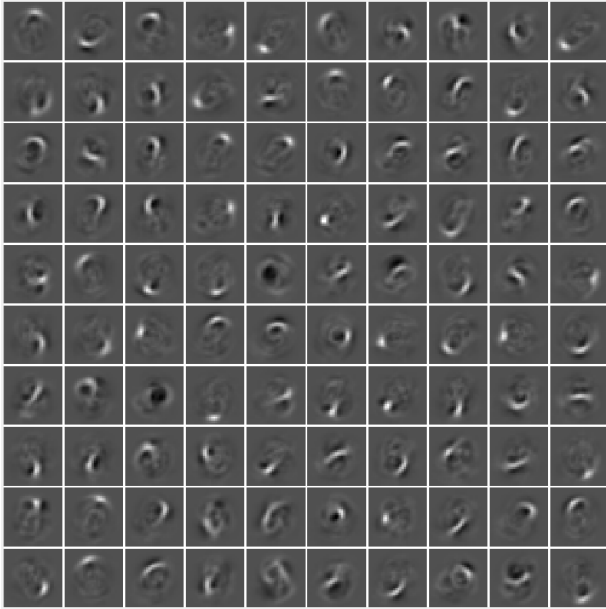
Şekil 9. MNIST için kullanılan AE mimarisi

Değiştirilen seyreklik parametresinin (p) gizli hücre sayılarına göre doğruluk oranına etkisi Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Seyreklik parametresinin gizli hücre sayısına göre sınıflandırma doğrulukları

Orta katman hücre sayısı	p	Doğruluk(%)
10	0.05	80
	0.10	78.3
	0.20	82
	0.50	80.9
100	0.05	96
	0.10	96.9
	0.20	98.7
	0.50	97.7

Bir Autoencoderin kodlayıcı parçası tarafından öğrendiği eşleme, verilerden özellikler ayıklamak için kullanılır. Kodlayıcıdaki her bir nöron, belirli bir görsel özelliğe karşılık gelen bir ağırlık vektörüne sahiptir. Orta katman sayısı 100 olan AE'nin orta katman çıkışı görsel olarak Şekil 10'da verilmektedir.

**Şekil 10.** AE'nin orta katman çıkışları

İkinci bir AE uygulanarak 100 boyutuna indirgenen özellik sayısı 50'ye indirgenmiştir. Bu 50 özellik ise ağa verilerek sınıflandırılmıştır. İkili Autoencoder ile 784 özellikli MNIST veri setinin farklı gizli katman hücre sayılarına göre doğruluk oranları Tablo 4'de verilmektedir.

Tablo 4. İkili AE yönteminin farklı gizli katman hücre sayısına göre sınıflandırma işlemi doğruluk oranları (%)

Giriş Veri Boyutu	AE1	AE2	Doğruluk(%)
784	100	50	99.1
	80	40	98.7
	60	30	97.6
	50	25	97.3
	40	20	96.1

MNIST veri setine 3 tane Autoencoder uygulanıp veri setinin boyutu farklı gizli katman hücre sayılarına indirgenmiştir. İndirgenen bu veri setinin sınıflandırma doğruluk oranları Tablo 5'de verilmiştir. Tablo 5'den de görüldüğü gibi sınıflandırma performanslarında düşüş yaşanmıştır. Bunun temel nedeni gizli katman sayısının artması olarak gözlemlenmiştir. Her bir oto-kodlayıcı çıkışında ister istemez bir miktar önemli sayılabilecek veri kaybı yaşanmaktadır. Üçlü ardışıl yapıda da bu kayıp oranının daha fazla olması olası bir durumdur. Bunun neticesinde doğruluk oranlarında düşüş meydana gelebilmektedir.

Tablo 5. Üçlü AE yönteminin farklı gizli katman hücre sayısına göre sınıflandırma işlemi doğruluk oranları (%)

Giriş Veri Boyutu	AE1	AE2	AE3	Doğruluk(%)
784	392	196	98	78.29
	196	98	49	78.92
	132	66	33	79.01
	98	49	25	78.64
	80	40	20	77.63
	66	33	16	76.23
	56	28	14	73.94

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada MNIST ve sentetik verilerin kullanılarak doğrusal yöntemlerden olan PCA ve LDA'nın ayrıntılı olarak algoritmaları incelenmiştir. Ayrıca doğrusal olmayan AE yönteminin ise gizli katman hücre sayısına göre sınıflandırma doğruluk oranları incelenmiştir. Yüksek oranda doğru ve hızlı bir sınıflandırma gerçekleştirebilmek için veri tabanları üzerinde boyut indirgemesi gerçekleştirilmiş ve deneysel çalışmalar yürütülmüştür. Literatürde yapılan çalışmalarda ayırt edici özneliği tespit edilmiş veri tabanları üzerinde doğrusal ve doğrusal olmayan boyut indirgeme tekniklerinin sınıflandırma başarıları incelenmiştir. Sentetik veriler üzerinde temel bileşen analizinin başarısının daha yüksek olduğu görülmüştür. 784 boyutunda özellik vektörüne sahip el yazısı veri seti üzerindeki sınıflandırma doğruluk değerlerine bakıldığında, PCA'nın LDA'dan daha başarılı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Ortalama 20 öznelik ile MNIST veri setinin %90'lar üzerinde temsil edilmesi PCA'nın başarısını göstermektedir. Aynı zamanda bu iki yöntemin çalışma sürelerinin kıyaslamalarına bakılarak PCA'nın daha kısa sürede veri boyutunu indirgediği gözlemlenmiştir.

Doğrusal olmayan derin öğrenme modellerinden oto-kodlayıcı çalışma zamanı doğrusal yöntemlere göre daha yüksektir. Bunun başlıca nedeni oto-kodlayıcı mimarisinde birden fazla gizli katman ağının olması dolayısıyla hesap yükünün fazla olmasıdır. Oto-kodlayıcının gizli hücre sayısı ve seyreklik parametresi gibi hiper parametrelerinin değiştirilmesiyle bu parametrelerin öğrenme başarısı üzerindeki etkileri

gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde boyut indirgemekle birlikte en yüksek başarı oranı otokodlayıcı ile elde edilmiştir. Deneysel sonuçlar doğrusal tekniklerin seçilen sentetik veriler üzerinde iyi performans göstermekle birlikte gerçek veriler üzerinde istenilen düzeyde olmadığını göstermektedir. Derin öğrenme yöntemlerinden Autoencoder ise gerçek veri seti üzerinde daha yüksek bir performans sergilemektedir.

Electron Syst. 2007.

KAYNAKLAR

- [1] Tharwat A. Principal component analysis - a tutorial. *Int J Appl Pattern Recognit.* 2016.
- [2] Jamal A, Handayani A, Septiandri AA, Ripmiatin E, Effendi Y. Dimensionality Reduction using PCA and K-Means Clustering for Breast Cancer Prediction. *Lontar Komput J Ilm Teknol Inf.* 2018.
- [3] Gu Q, Li Z, Han J. Linear discriminant dimensionality reduction. In: *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics).* 2011.
- [4] Analysis LD. Introduction to LDA LDA. *Cancer Lett.* 2005.
- [5] Ng A. "Sparse autoencoder." *CS294A Lect notes* 72. 2011;1(19).
- [6] Çalışan M, Talu MF. Examination of the effect of the basic parameters of the auto-encoder on coding performance. In: *IDAP 2017 - International Artificial Intelligence and Data Processing Symposium.* 2017.
- [7] MNIST Dataset [Internet]. [cited 2019 May 12]. Available from: <http://yann.lecun.com/exdb/mnist/>
- [8] Keogh EJ, Pazzani MJ. A simple dimensionality reduction technique for fast similarity search in large time series databases. In: *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics).* 2000.
- [9] Bishop CM. *Pattern Recognition and Machine Learning.* Oxford Communications. 2004.
- [10] Han J, Kamber M, Pei J. *Data Mining: Concepts and Techniques.* Data Mining: Concepts and Techniques. 2012.
- [11] Tantawi MM, Revett K, Salem A, Tolba MF. Fiducial feature reduction analysis for electrocardiogram (ECG) based biometric recognition. *J Intell Inf Syst.* 2013.
- [12] Bruce LM, Koger CH, Li J. Dimensionality reduction of hyperspectral data using discrete wavelet transform feature extraction. *IEEE Trans Geosci Remote Sens.* 2002.
- [13] Mnih V, Kavukcuoglu K, Silver D, Rusu AA, Veness J, Bellemare MG, et al. Human-level control through deep reinforcement learning. *Nature.* 2015.
- [14] Vinjamuri R, Patel V, Powell M, Mao ZH, Crone N. Candidates for synergies: Linear Discriminants versus principal components. *Comput Intell Neurosci.* 2014.
- [15] Runnalls AR. Kullback-Leibler approach to Gaussian mixture reduction. *IEEE Trans Aerosp*



Burdur Koşullarında İkinci Ürün Körpe Mısır Yetiştirme Olanakları

Ülkü YILDIRKAN¹, Burhan KARA^{2*}

¹ Ziraat Mühendisi, Burdur, Türkiye

² Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta, Türkiye

Ülkü YILDIRKAN ORCID No: 0000-0001-6881-6813

Burhan KARA ORCID No: 0000-0002-4207-0539

*Sorumlu yazar: burhankara@isparta.edu.tr

(Alınış: 07.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Körpe mısır,
İkinci ürün,
Verim

Öz: Araştırma, Burdur koşullarında ikinci ürün olarak körpe mısır yetiştirme olanaklarını araştırmak amacıyla 2019 yılında yürütülmüştür. Deneme; “Argos, Batem tatlı, Bond, Calipos, Khan, Mirza, SF1280 ve Vega F₁” şeker mısır çeşitleri kullanılarak, tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

Burdur’da ikinci ürün koşullarında 50-76 gün arasında körpe koçan hasadı yapılmıştır. Genel olarak incelenen karakterler bakımından Mirza, SF1280 ve Vega F₁ çeşitleri en yüksek değerlere sahip olmuştur. Koçan püskülü çıkarma süresi, körpe koçan boyu, çapı, ağırlığı, verimi ve dekara körpe koçan sayısı sırasıyla, 53,0-58,1 gün, 9,8-18,6 cm, 16,3-18,6 mm, 16,9-22,5 g, 191,9-342,3 kg da⁻¹ ve 10618,7-21110,3 adet da⁻¹ arasında ölçülmüştür.

Çalışma sonucuna göre, burdur ikinci ürün koşullarında körpe mısır için Vega F1 çeşidi önerilmektedir.

Cultivation Possibility of Baby Corn in the Second Crop in Conditions of Burdur

Keywords

Baby corn,
The second crop,
Yield

Abstract: The research was carried out with aim to investigate of possibility of baby corn cultivation of in the second crop in Burdur conditions in 2019 year. The experiment was set up according to a randomized complete block design with three replicates using the “Argos, Batem tatlı, Bond, Calipos, Khan, Mirza, SF1280 and Vega F₁” sweet corn cultivars.

Baby corn was harvested between 50-76 days in the second crop conditions of Burdur. Generally, in term of examined baby corn characteristics, Mirza, SF1280 and Vega F₁ were highest values. Silking time, baby corn length, diameter, weight, yield and number of baby corn were measured between 53,0-58,1 days, 9,8-18,6 cm, 16,3-18,6 mm, 16,9-22,5 g, 191,9-342,3 kg da⁻¹ and 10618,7-21110,3 number da⁻¹, respectively.

According to the result of study, Vega F1 cultivar could be recommended for baby corn in the second crop conditions of Burdur.

1. GİRİŞ

Dünyada olduğu gibi ülkemizde hızlı bir nüfus artışı olmaktadır, bunun tersine tarım alanları aynı hızda azalmaktadır. Artan dünya nüfusunu besin ihtiyacını karşılamak için mevcut tarım arazilerinin etkin bir şekilde kullanılması gerekmektedir. Koçan püskülü çıkarma döneminde hasat edilen döllememiş yumurtalar topluluğu olarak tarif edilen körpe mısır [1] taze, konserve, sandviç, çorbalarda, pizzalarda, pirinç biryani, sebze salatalarında, kızartılmış şekilde ve turşu yapımında kullanılmaktadır [2]. Son yıllarda dünyada

ve ülkemizde giderek tanınan ve yeni bir damak tadı olarak körpe mısır değerlendirilmektedir.

Mısırın yemlik değeri ve yeşil aksam verimi diğer bütün tahıl türlerinden yüksek olup, körpe mısır hasadından sonra kalan sap ve koçan yaprağı gibi yan ürünler taze ot olarak hayvan beslenmesinde kullanılabilir. Çeşitlere göre değişimle birlikte ekimden itibaren yaklaşık 45-65 günde hasat edilebilmektedir. Kısa vejetasyona sahip olması nedeniyle gübreleme miktarı, sulama sayısı ve diğer girdiler daha düşüktür, bu nedenle üretim maliyetini düşüktür. Körpe mısırdaki verim; hasat zamanına, ekolojik koşullara, bakım işlemlerine (gübreleme, sulama, çapalama, vb.) ve en önemli faktör olan çeşide (hibrit, açıkta tozlanma ve körpe mısır için

geliştirilmiş çeşitler) göre değişmektedir. Yürütülen önceki çalışmalarda körpe mısır verimi; 208,3-276,5 kg da⁻¹ [3], 223,0 kg da⁻¹ [4], 181,1-262,1 kg da⁻¹ [5] arasında olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Kısa dönemde hasat edilebilme özelliğinden dolayı Orta Anadolu ve geçiş bölgelerinde ikinci ürün olarak, Akdeniz bölgesinde ise ara ürün olarak yetiştirilebilir. Böylece arazinin daha etkili kullanımını sağlamış olur. Akdeniz bölgesi ile Orta Anadolu bölgesinin geçiş alanında yer Burdur ilinde karasal iklim hüküm sürmektedir. Bölgede buğday-arpa hasadı Haziran ayının sonunda başlar ve 8-10 Temmuz'da sona ermektedir. Bu alanlarda tekrar buğday veya arpa ekilecekse, Ekim ayı sonu hatta Kasım ayının ortalarına kadar herhangi bir ürün ekilmeden boş bırakılmaktadır. Bu çalışma toprağın boş kaldığı bu zaman periyodunu değerlendirmek için kısa vejetasyon süresine sahip (koçan püskülü çıkarma başlangıcında hasat edilen) körpe mısırın ikinci ürün olarak yetiştirilebilme olanaklarını araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

Tablo 1. Deneme alanı ve yılına ait iklim verileri*

İklim faktörleri	Yıl	Temmuz	Ağustos	Eylül	Top./Ort.
Yağış (mm)	2019	9,2	0,8	17,4	27,4
	Uzun yıllar	11,2	12,3	19,6	43,1
Ortalama sıcaklık (°C)	2019	25,0	25,5	21,4	23,9
	Uzun yıllar	25,9	25,6	21,3	24,2

*İklim verileri Burdur meteoroloji istasyonundan alınmıştır.

Deneme alanı toprağı killi-kumlu bir yapıya sahip olup, bazik, kireç oranı yüksek ve organik madde oranı düşük yapıdadır.

Deneme alanı ön bitkiden (Buğday) sonra tava gelmesi için sulanmış, 3 gün sonra pullukla yaklaşık 20 cm derinliğinde işlenmiş, daha sonra diskaro çekilerek tohum yatağı hazırlanmış ve 8 Temmuz 2019'da ekim yapılmıştır. Parsel sıra uzunluğu 4 m ve 4 sıra, bloklar arasında 2 m, her parsel arasında bir sıra aralık bırakılmış, ekimden önce parsellere damla sulama boruları döşenerek 70 cm sıra arası ve 18 cm sıra üzeri mesafede (70 cm x 18 cm), her ocağa iki tohum gelecek şekilde 3-4 cm derinliğinde ekim yapılmıştır. Çıkıştan sonra her ocakta bir bitki kalacak şekilde tekleme yapılmıştır.

Ekimle birlikte taban gübresi saf olarak 15 kg/da (15-15-15), çapalamayla birlikte bitki diz boyu (35-40 cm) döneminde üst gübre olarak 12 kg/da üre uygulanmış, ekimden sonra çıkış yapana kadar ve çıkıştan sonra toprak nem düzeyi kontrol edilerek sulama yapılmıştır. Hasat; çeşitlerin koçan püskülü çıkışını takiben 3. günde [6] hasat edilmiştir. Hasat edilen körpe mısırdaki koçan püskülü çıkarma süresi (gün), körpe mısır boyu (cm), körpe mısır çapı (mm), tek körpe koçan ağırlığı (g), körpe koçan verimi (kg da⁻¹) ve körpe koçan sayısı (adet da⁻¹) ölçümleri yapılmıştır [6].

Elde edilen verilerin varyans analizleri SAS istatistik paket programından faydalanılarak yapılacak ve ortalamalar arasındaki farkların önem düzeyleri LSD Testine (P<0.05, P<0.01) göre belirlenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Araştırma, Burdur il merkezi ikinci ürün koşullarında, "Argos, Batem tatlı, Bond, Calipos, Khan, Mirza, SF1280 ve Vega F₁" şeker mısır çeşitleri kullanılarak 2019 yılında tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Denemenin yürütüldüğü Burdur ili, Akdeniz Bölgesi'nden Ege ve Orta Anadolu Bölgeleri'ne geçiş alanında bulunmakta ve 850 metre rakımda karasal iklime sahiptir.

Vejetasyon süresinde (Temmuz-Eylül, 2019) toplam yağış miktarı (23,9 mm) uzun yıllar ortalamasına (43,1 mm) göre düşük, ortalama sıcaklık (23,9 °C) uzun yıllar ortalaması (24,2 °C) ile benzer olmuştur (Tablo 1).

3. BULGULAR

Burdur ikinci ürün koşullarında şeker mısır çeşitlerinin ilk ve son körpe koçan hasat süreleri 50-76 gün arasında değişmiştir (Tablo 2). Çeşitlerin çiçeklenme sürelerinin farklı olması ve ilk hasattan sonra yaprak koltuklarından yeni koçanlar çıkması körpe koçan hasat süresini uzatmıştır. Hasat süreleri arasındaki mesafenin uzun olması, taze tüketim amacıyla üretilen körpe koçan tüketiminin geniş sürelerle yayılması bakımından istenen bir durumdur.

Tablo 2. Şeker mısır çeşitlerine ait körpe mısır hasat tarihleri

Çeşitler	Hasat tarihi	Gün
Argos	27.08.19/22.09.19	50-76
Batem Tatlı	01.09.19/22.09.19	55-76
Bond	27.08.19/22.09.19	50-76
Calipos	01.09.19/22.09.19	55-76
Febris	27.08.19/22.09.19	50-76
Khan	30.08.19/22.09.19	53-76
Mirza	30.08.19/22.09.19	53-76
SF1280	01.09.19/22.09.19	50-76
Vega	27.08.19/22.09.19	50-76

Burdur ikinci ürün koşullarında şeker mısır çeşitlerinin körpe koçan verimi ve koçan özellikleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli olmuştur (Tablo 3). İlk koçan püskülü çıkarma süresi 53,0 gün (Agros) - 60,6 gün (Batem tatlı), körpe mısır boyu 9,8 mm (Batem tatlı) - 12,8 mm (Mirza), körpe mısır çapı 16,3 mm (Batem tatlı) - 18,6 mm (SF1280), tek körpe koçan ağırlığı 12,1 g (Batem tatlı) - 22,5 g (SF1280), körpe koçan verimi 191,9 kg da⁻¹ (Calipos) - 342,3 kg da⁻¹ (Mirza) ve körpe koçan sayısı 21110,3 adet da⁻¹ (Agros) - 10618,7 adet da⁻¹ (SF1280) arasında değişmiştir (Tablo 3). Mirza, SF1280 ve Vega çeşitlerinin körpe koçan boyutları daha

yüksek olmuş ve bu durum verime yansımıştır. Körpe koçan pazarlaması genellikle koçan özelliklerine göre yapılmaktadır. TAS 1504-2007 standartlarına göre, körpe mısır uzunluğu ekstra sınıf (9,0-13,0 cm), birinci sınıf (7,0-9,0 cm) ve ikinci sınıf (4,0-9,0 cm) olarak değerlendirilmektedir. Bu standartlarına göre tüm çeşitlerden elde edilen körpe koçanların %90'ını pazarlanabilir özellikler arasında olduğu belirlenmiştir. Koçan özelliklerinin yanısıra koçan sayısı da önemli bir parametredir. Agros, Bond, Febris, Khan ve Vega çeşitlerin dekara 20000 üzeninde körpe koçan elde edilmiştir. Mirza ve SF1280 çeşitlerinin koçan boyutları yüksek olurken birim alan koçan sayısı düşük olmuştur. Vega çeşidinin hem koçan boyutları hem de koçan sayısı bakımından ön plana çıkmıştır. Araştırmada kullanılan çeşitler hibrit olmasına rağmen 3-4 kardeş oluşabilmektedir, kardeşlerden bir ve iki adedi bazen koçan bağlayabiliyor, ayrıca körpe koçanlar hasat edildikten sonra diğer yaprak koltuklarından yeni koçanlar gelişmektedir. Çeşitlerin hem kardeşlenme sayıları hem de hasattan sonra yeni koçan geliştirme tepkileri farklı olabilir. Bu nedenle çeşitler arasında

koçan sayısı bakımından farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Kara ve Bozkurt [7] körpe mısır koçan sayısı, körpe koçan boyu, çapı, ağırlığı ve verimi sırasıyla, 8086,4-8457,9 adet/da, 9,07-16,16 cm, 11,04-18,13 mm, 16,31-43,58 g/körpe koçan, 130,5-266,6 kg/da, Kara [8] körpe koçan boyu 10,06-11,60 mm, çapı 12,95-15,10 mm, körpe koçan sayısı 8573,3-26492,7 adet da⁻¹ ve körpe koçan verimi 167,5-593,0 kg da⁻¹, Kara ve ark. [9] körpe koçan boyu 8,2-9,3 cm, çapı 12,7-14,9 mm, ağırlığı 20,5-25,6 g ve sayısı 8025,6-8136,7 adet/da arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Kasıkranan ve ark. [10] ve Kara ve ark. [11] körpe mısır koçan boyu, çapı ve ağırlığı gibi özellikleri mısır alt türlerine ve hatta aynı alt türe ait çeşitlere göre farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Lopes ve ark. [5], Kara ve ark. [11], Silva ve ark. [12], Sing ve ark. [13], Ahmed ve ark. [14] körpe mısırın koçan veriminin çeşitlerin kardeşlenme özelliklerine, morfolojik yapılarına, erkenci ve geççi olmalarına, koçan bağlama sayısı gibi özelliklerine bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini bildirmişlerdir.

Tablo 3. Burdur ikinci ürün koşullarında şeker mısır çeşitlerinin körpe koçan verim ve özellikleri

Çeşitler	İlk koçan püs. çıkarma süresi (gün)	Körpe koçan boyu (mm)	Körpe koçan çapı (mm)	Tek körpe koçan ağırlığı (g)	Körpe koçan verimi (kg/da)	Körpe koçan sayısı (adet/da)
Argos	53,0 c	11,8 ab	17,1 ab	17,5 bc	240,4 e	21110,3 a
Batem Tatlı	60,6 a	9,8 d	16,3 b	12,1 d	200,5 f	15697,7 b
Bond	54,3 c	11,7 ab	16,8 ab	15,6 cd	281,8 bcd	20317,5 a
Calipos	58,1 ab	10,1 cd	17,5 ab	15,1 cd	191,9 f	15459,7 b
Febris	55,3 bc	11,2 bc	17,2 ab	17,1 bc	251,8 de	20031,3 a
Khan	55,5 bc	11,4 bc	16,5 b	16,9 bc	273,2 cd	20952,2 a
Mirza	56,7 bc	12,8 a	18,4 a	21,5 ab	342,3 a	15253,7 b
Sf1280	58,0 ab	12,3 ab	18,6 a	22,5 a	312,9 ab	10618,7 c
Vega	54,0 c	11,4 ab	17,3 ab	19,3 abc	296,7 bc	21031,3 a
LSD	3,83	1,37	1,67	4,75	31,72	2286,4
Kareler ort.	18,083	2,728	1,614	31,303	7461,962	4147244,40
F değeri	7,00**	8,21**	3,27*	7,88 **	42,16**	45,12**
CV değeri (%)	4,85	5,05	4,07	7,38	8,30	11,37

*, **: Sırasıyla P≤0,05, P≤0,01 düzeyinde önemli.

Aynı sütunda benzer harf ile gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur.

4. SONUÇ

Bir yıllık araştırma sonuçlarına göre, Burdur ikinci ürün koşullarında şeker mısırdaki ilk körpe koçan hasadının ekimden itibaren 50. günde yapıldığı, Mirza, SF1280 ve Vega çeşitlerinin verim ve koçan boyutları en yüksek olmuştur. Koçan özellikleri, körpe koçan verimi ve körpe koçan sayısı göz önüne alındığında Vega çeşidi önerilebilir.

Karasal iklim koşullarına sahip benzer bölgelerin sulanabilir alanlarında buğday hasadından sonra sonbahar ekim zamanına kadar olan ara dönemde diğer mısır alt türlerine göre çiçeklenme süresi daha kısa olan şeker mısır çeşitleri körpe mısır olarak taze ve turşu şeklinde tüketimi için yetiştirilebilir. Her ne kadar atıl bir zaman diliminde arazi etkin olarak kullanılsa da tek başına körpe mısır üretimi ekonomik olamayabilir bu nedenle, hasattan sonra kalan bitki kısımların yeşil yem olarak hayvancılık yapan işletmeler ve küçük aile işletmeleri için daha uygun bir üretim şekli olabilir.

Bilgilendirme

Bu makale, Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Galinat WC. Whole Ear Baby Corn, A new way to eat corn. Proceeding of Northeast Corn Improvement Conference, 1985; 40: 22-27.
- [2] Najeeb S, Rather AG, Sheikh FA, Ahanger MA, Teli NA. Baby corn (*Zea mays* L.): A means of crop diversification under temperate conditions of Kashmir. Maize Genetics Cooperation Newsletter, 2011; 85.
- [3] Gözübenli H, Konuşkan Ö. Farklı bitki sıklıklarının bazı mısır genotiplerinde körpe koçan (baby corn) verimi ve özelliklerine etkisi. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kong 19-22 Ekim, Hatay, Poster Bil. 2009; s. 573-576.
- [4] Asaduzzaman MD, Biswas M, Islam MDN, Rahman MM, Begum R, Sarkar AR. Variety and N-fertilizer rate influence the growth, yield

- and yield parameters of baby corn (*Zea mays* L.). J of Agric Sci. 2014; 6: 118-131.
- [5] Lopes AP, Nobrega LHP, Pacheco FP, Cruz-Silva CTA, Maize Varieties for Baby Corn Yield and Post-Harvest Quality under Organic Cropping. Bioscience J. 2016; 32: 298-307.
- [6] Bar-Zur A, Saadi H. Prolific maize hybrids for baby corn. J of Horticulture Sci. 1990; 65: 97-100.
- [7] Kara B, Bozkurt H. Mısırdaki körpe koçan verim ve özelliklerine hasat zamanlarının etkisi. Derim Der. 2018; 35(1): 61-66.
- [8] Kara B. Ocakta tohum sayısının körpe mısır verimine ve bazı özelliklerine etkisi. Akademik Ziraat Der. 2019; 8(1): 93-96.
- [9] Kara B, Şener A, Işık C, Gündüz A. Farklı mısır (*Zea mays* L.) alt türlerinin körpe mısır özelliklerinin karşılaştırılması. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilim Der. 2017; 3(2): 95-99.
- [10] Kasikranan S, Jones H, Suksri A. Growth, yield, qualities and appropriate sizes of eight baby corn cultivars (*Zea mays* L.) for industrial uses grown on oxic paleustults soil, Northeast Thailand. Pakistan J of Bio Sci. 2001; 4: 32-36.
- [11] Kara B, Gül H, Dizlek H. Şeker mısırdaki kardeş ve ikinci koçanın koparılmasının taze/körpe koçanın verimine ve bazı özelliklerine etkisi. Mediterranean Agric Sci. 2018; 31(2): 137-140.
- [12] Silva PS, Silva PI, Sousa AK, Gurgel KM, Filho IP. Green ear yield and grain yield of maize after harvest of the first ear as baby corn. Horticulture Brazilian 2006; 24: 151-155.
- [13] Singh G, Kumar S, Singh R, Singh SS. Growth and yield of baby corn (*Zea mays* L.) as influenced by varieties, spacings and dates of sowing. Indian J Agric Res. 2015; 49(4): 353-357.
- [14] Ahmed A, Begum B, Omy SH, Rohman MM, Amiruzzaman DM. Evaluation of Inbred lines of baby corn through line x tester method. Bangladesh J Agric Res. 2016; 41(2): 311-321.



Yemlik Bezelye ve Yemlik Bakla Bitki Kısımlarının Kalite Özellikleri ve Mineral Madde İçeriklerinin Belirlenmesi

Ömer Süha USLU¹, Fatma AKBAY^{2*}, Adem EROL³

^{1,2,3}Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

Ömer Suha USLU ORCID No: 0000-0003-0858-0305

Fatma AKBAY ORCID No: 0000-0002-0156-9974

Adem EROL ORCID No: 0000-0002-3381-8402

*Sorumlu yazar: ftm.akbay01@gmail.com

(Alınış: 11.04.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Bitki kısımları, Ham protein, Ham kül, Makro-mikro element, Yemlik bezelye, Yemlik bakla

Öz: Araştırma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Alanında yetiştirilen yemlik bezelye ve yemlik baklaya ait bazı bitki kısımlarının (tüm bitki, yaprak, sap ve dal) kalite özellikleri ve makro-mikro besin elementi içeriklerini tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Çalışma 2017-2018 yetiştirme sezonunda tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma sonuçlarına göre; en yüksek kuru madde, ham protein ve ham kül oranı bitkilerin yaprak kısmında saptanmıştır. Kuru madde ve ham protein yönünden yemlik bezelye, kül oranı yönünden bakla bitkisinin zengin olduğu saptanmıştır. Çalışmada Al, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb ve Zn besin elementleri, türler ve tür x bitki kısımları interaksyonu arasında önemli derecede fark olduğu saptanmıştır. Tür x bitki kısımları interaksyonuna ait ortalama değerlerin sırasıyla; 161-251 ppm, 13,1-15,7 ppm, 6019-7681 ppm, 0,01-0,02 ppm, 0,23-0,34 ppm, 1,31-1,69 ppm, 6,99-9,87 ppm, 164-221,9 ppm, 14163-16616 ppm, 2538-3526 ppm, 16,61-27,55 ppm, 2486-6723 ppm, 3,17-8,77 ppm, 2567-3428 ppm, 1,23-1,37 ppm ve 14,31-18,93 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bitkilerin yaprak kısımlarının diğer bitki kısımlarına göre besin elementi yönünden daha zengin ve besleyici olduğu bu sebeple iyi muhafaza edilmesi gerektiği anlaşılmıştır.

Determination of Quality Properties and Mineral Matter Content of Plant Parts of Forage Pea and Forage Broad Bean

Keywords

Crude ash, Crude protein, Forage broad bean, Forage pea, Macro-micro element, Plant parts

Abstract: The research was carried out to determine the quality characteristics and macro-micro nutrient content of the forage pea and forage broad bean (whole plant, leaf, stem and branch) grown in the field of research and application in Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Agriculture. The experimental design was arranged as Split Plots in Randomized Complete Blocks with three replications in the 2017-2018 growing season. According to the research results; the highest dry matter, crude protein and crude ash ratio was determined in the leaf part of the plants. It is determined that the forage pea plant is rich in terms of dry matter and crude protein content and the forage broad bean in terms of crude ash content. In the study, it was determined that there was a significant difference between Al, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb and Zn elements, cultivars and cultivar x plant parts. Average values of cultivar x plant parts interaction has been determined to vary between respectively; 161-251 ppm, 13.1-15.7 ppm, 6019-7681 ppm, 0.01-0.02 ppm, 0.23-0.34 ppm, 1.31-1.69 ppm, 6.99-9.87 ppm, 164.00-221.9 ppm, 14163-16616 ppm, 2538-3527 ppm, 16.61-27.55 ppm, 2486-6723 ppm, 3.17-8.77 ppm, 2567-3428 ppm, 1.23-1.37 ppm and 14.31-18.93 ppm. It has been understood that the leaf parts of the plants are rich and nutritious in terms of nutrients compared to the other plant parts, therefore it should be preserved well.

1.GİRİŞ

Baklagiller, *Leguminosae (Fabaceae)* familyasında yer alan dünya üzerindeki en geniş familyalardan birisidir. *Rhizobium* cinsi bakteriler yardımı ile havadaki elementer azotu toprağa bağlayarak yüksek yapılı bitkilerin kullanabileceği forma dönüştürebilme yeteneklerinden dolayı mera alanlarında, tarım arazilerinde ve ekim öbeti sisteminde önemlidir. Ayrıca diğer bitki türleri arasında ayrıcalıklı yere sahiptir [1]. Baklagiller içerisinde yer alan yem bezelyesi ve yemlik bakla bitkileri genel olarak tek yıllık ve kışlık yetiştirilip, ilkbaharda yeşil ot amacıyla biçilerek ara ürün olarak değerlendirilmektedir. Ot ve tohum üretimi, otlatma, yeşil gübreleme ve silaj amacıyla yetiştirilmektedir. Bunun yanı sıra yem bezelyesi yalnız veya tahıllarla karışım halinde ekilebilmektedir [2]. Yemlik bakla ise özellikle mısır ve buğday bitkisi için iyi bir ön bitki olabilmekte, fakat aynı tarlaya ekilebilmesi için en az dört yıl süre geçmektedir [3,4].

Baklagiller kaliteli kaba yem üretimi için önemli bir yer teşkil etmektedir. Kaliteli kaba yemler; geviş getiren küçük ve büyükbaş hayvanların rumen flora ve faunasının gelişimi için gerekli olan protein, yağ, mineral ve vitaminlerce zengin olması bakımından çok önemlidir [5]. İz mineraller canlıların yaşam fonksiyonlarının yerine getirilmesi ve fizyolojik işleyişin sürekliliğinde son derece önemlidirler. İz mineraller; hücrelerin, hormonların ve vücut enzimlerinin esansiyel yapı taşlarıdır [6].

Yapılan birçok araştırmada hasat zamanları, kaba yemlerin kalite özelliklerini, beslenme değerlerini ve sindirilebilirliklerini etkilemiştir [7,8,9,10] Bitkinin kök, sap, yaprak ve çiçek organları arasında da sindirim değerleri farklı olmaktadır [11]. Bitkilerin gelişme durumlarına bağlı olarak besin elementleri de (Cu, Mn ve Zn) farklılık göstermektedir [12] Küçük ve ark. [13] tarafından yapılan çalışmada doğal meradan farklı gelişme dönemlerinde toplanan yem bitkilerinin makro ve mikro besin elementlerinin içeriğinin gelişme dönemi ve bitki türlerine göre farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir.

Bu nedenle bu çalışma, yem bezelyesi ve yemlik bakla bitkisinin; bitki kısımlarının (tüm bitki, sap, yaprak ve dal) kalite özelliklerinin yanı sıra hayvanlar için zorunlu olan mineral madde içeriklerini (Al, B, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Ni, P, Pb ve Zn) tespit etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Araştırma, 2017-2018 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümüne ait araştırma ve uygulama alanında yürütülmüştür. Deneme alanının bulunduğu bölge 568 metre rakıma sahiptir ve Türkiye'nin 37° 36' Kuzey enlemleri ve 46° 56' Doğu boylam dereceleri arasında yer almaktadır. Bölge Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı iklim özelliğine sahip olmakla beraber, gece gündüz sıcaklık farkı az, yazları sıcak ve kurak, kışları ılık ve yağışlı geçmektedir.

Tablo 1. Kahramanmaraş ili iklim verileri [14]

AYLAR	Yağış (mm)		Sıcaklık (°C)		Nispi Nem (%)	
	2017	Uzun	2017	Uzun	2017	Uzun
	2018	Yıllar	2018	Yıllar	2018	Yıllar
Kasım	91,2	87,5	12,2	11,5	64,17	66,68
Aralık	33,4	116,6	8,8	6,8	68,97	79,85
Ocak	149,4	125,4	7,4	4,9	69,45	69,99
Şubat	60,2	108,3	9,6	6,4	69,44	65,62
Mart	50,2	93,4	14,1	10,6	60,80	60,00
Top./Ort.	384,4	531,2	10,42	8,04	66,57	68,42

Tablo 1'de görüldüğü gibi ekimin yapıldığı dönemde toplam yağış 384,4 mm olarak gerçekleşmiş ve uzun yıllar ortalamasına göre 146,8 mm daha az yağış söz konusu olmuştur. Yine Sıcaklık ortalaması deneme yapıldığı dönemde ortalama 10,42 °C, uzun yıllar ortalamasında ise 8,04 °C olarak gerçekleşmiş ve uzun yıllara göre 2,38 °C daha sıcak olmuştur. Uzun yıllar ortalaması göre Kahramanmaraş'ta ortalama nispi nem % 68,42 olurken, 2017-2018 döneminde % 66,57 olarak gerçekleşmiştir. Deneme alanından 0-30 cm'lik toprak örneğine göre deneme alanı killi bir yapıdadır. Topraktaki yarıyıllı potasyum (K₂O) (55,1 kg da⁻¹) yüksek seviyede, yarıyıllı fosfor (P₂O₅) (2,48 kg da⁻¹) çok az, topraktaki organik madde miktarı (%1,58) az, kireç miktarı (% 6,09) orta ve pH değeri 7,71 olarak belirlenmiştir.

Denemede, yemlik bakla (*Vicia faba var. minor L.*) ve yem bezelyesi (*Pisum arvense L.*) olmak üzere 2 farklı bitki türü ve tüm bitki, yaprak, sap ve dal olmak üzere dört farklı muamele grubundan oluşmuştur. Tohumlar hayvancılık yapan çiftçilerden elde edilmiştir. Bakla tohumları 20 kg da-1 ve yem bezelyesi tohumları 12 kg da-1 esasına göre 20 m² alanda elle ekimi yapılmıştır. Ekimle birlikte 3 kg da-1 azot uygulaması yapılmıştır. Bitki örnekleri tam çiçeklenme döneminde 23.03.2018 tarihinde hasat edilmiş ve tüm bitki, yaprak, sap ve dal olmak üzere 4 farklı şekilde paketlenmiştir. Kuru madde oranları belirlendikten sonra, materyaller 1 mm elek çapındaki öğütme makinasında öğütülerek yapılacak analizler için paketlenerek hazır hale getirilmiştir. Yem materyallerin ham protein oranı ve ham kül AOAC [15] tarafından bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır.

Bitkiye ait yaprak, sap, dal ve tüm bitki örnekleri, Jones ve Case [16] tarafından açıklandığı şekilde mineral madde analizine hazırlanmıştır. Numuneler, Jones ve Case [16] tarafından tanımlanan HNO₃ ve HClO₄ kullanılarak yapılan blok-parçalama prosedürü izlenerek yakılmış ve örnekler ait süzükler elde edilmiştir. Örnekleri 25 ml hacme getirmek için saf su eklenmiştir. Berrak solüsyon Perkin Elmer 3110 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ve spektrofotometrede elementer (Al, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Ni, Pb ve Zn) okumalar için hazır hale getirilmiştir. Kuo [17]'nin bildirdiği üzere, bitki ekstraktlarında P konsantrasyonu belirlenmesi vanadomolibdafosforik asit kullanılarak UV-VIS spektrofotometresi ile yapılmıştır. Bütün analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

2.1. İstatistiksel Analizler

Araştırmada elde edilen sonuçlar; tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine kullanılarak SAS

paket programı ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkın karşılaştırılmasında ise LSD testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Kahramanmaraş koşullarında yürütülen çalışmada; yemlik bakla ve yemlik bezelye türlerinde dört farklı bitki kısımlarında incelenen özelliklerden; kuru madde oranı, ham protein oranı, ham kül oranı Tablo 2’de, alüminyum, bor, kalsiyum, kadmiyum, kobalt, bakır, demir, potasyum, magnezyum, mangan, azot, nikel, fosfor, kurşun ve çinko (Al, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Ni, P, Pb ve Zn) içeriklerine ait ortalama değerler Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tür, tür x bitki kısımları interaksyonu kuru madde oranı, ham protein oranı ve ham kül oranı üzerine etkisi çok önemli ($P \leq 0,01$) olmuştur. En yüksek kuru madde oranı yemlik bezelyede % 21,06 oranında tespit edilmiştir. İnteraksiyon incelendiğinde en yüksek kuru madde oranı bitkinin yaprak kısmında % 23,29 olarak saptanmıştır. Çalışmada ham protein oranlarına ait ortalama değerler incelendiğinde en yüksek değer yemlik bezelye bitkisinde % 13,99 oranında tespit edilmiştir. Tür x bitki kısımları interaksiyon değerlerine göre en yüksek oran yaprak kısmında % 19,57 olarak saptanmıştır. Bu oranı % 13,50 tüm bitki, % 11,53 dal ve % 7,85 oranında bitkisinin sap kısmı izlemiştir. Ham kül oranı türler arasında en yüksek bakla bitkisinde (% 16,43), interaksyonda ise bitkinin yaprak kısmında (% 20,91) saptanmıştır. Bezelye bitkisine ait çalışmalar incelendiğinde; tüm bitkide, Uzun ve ark. [18] ham protein oranını % 19,9, Koçer ve Albayrak [19] ham protein oranını % 16,08, Canbolat ve ark. [20], ham protein oranını % 17,84, ham kül oranını ise % 5,74 olduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmada; en yüksek kuru madde, ham protein ve ham kül oranı bitkinin yaprak kısmında ve en yüksek kuru madde oranı ve protein oranı yemlik bezelyede bitkisinde, en yüksek kül oranı ise yemlik baklada tespit edilmiştir. Jung ve ark. [21], yem bitkilerde bulunan yaprakların saplara oranla yüksek ham protein ve daha düşük oranlarda ham selüloz içerdiğini bildirmektedirler. Bununla beraber protein içeriği bitkinin olgunlaşmasıyla birlikte bitkideki yaprak/sap oranının azalması, selüloz miktarında meydana gelen artış ham protein oranını düşürdüğü ifade edilmektedir [24]. Açıkgoz [22], hayvanların beslenme davranışlarında; yaprak oranı yüksek bitkileri tercih ettiklerini ve yeşil-kuru ot bol olarak verildiğinde, hayvanların öncelikle yaprakları tükettiğini bildirmiştir. Bu durum yaprakların saplara göre daha lezzetli olması ile açıklanabilir. Ayrıca kuru madde oranları, kül oranları ve protein oranları türler arasında farklılık olmasının bitkinin genetik yapısı, sıcaklık ve gübrelemeye göre değiştiği rapor edilmektedir [23].

Tablo 2. Yemlik bezelye ve yemlik bakla bitki kısımlarının kuru madde, ham protein ve ham kül oranları

Bitki Türleri	Bitki Kısımları				Ortalama
	Tüm Bitki	Yaprak	Sap	Dal	
Kuru Madde Oranı (%)					**
Y. Bakla	16,66	20,54	15,18	16,12	17,13 ^b
Y. Bezelye	18,61	26,02	19,65	19,94	21,06 ^a
Ortalama**	17,64 ^b	23,29 ^a	17,42 ^b	18,03 ^b	
Ham Protein Oranı (%)					**
Y. Bakla	12,90	18,28	6,41	11,36	12,24 ^b
Y. Bezelye	14,10	20,96	9,30	11,70	13,99 ^a
Ortalama**	13,50 ^b	19,57 ^a	7,85 ^d	11,53 ^c	
Ham Kül Oranı (%)					**
Y. Bakla	13,93	23,13	12,65	16,03	16,43 ^a
Y. Bezelye	12,67	18,68	12,30	10,34	13,49 ^b
Ortalama**	13,30 ^b	20,91 ^a	12,48 ^b	13,18 ^b	

** $P \leq 0,01$ ’e göre önemli.

Araştırmada Al ve B verileri incelendiğinde; tür ve tür x bitki kısımları arasında oluşan farklılığın çok önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0,01$). En yüksek Al ve B yemlik bakla bitkisinde (294 ve 16,1 ppm) tespit edilmiştir. Al en yüksek bitkinin yaprak kısmında (251 ppm), B ise bitkinin sap (15,7 ppm) kısmında tespit edilmiştir (Tablo 3). Hayvan beslemede iz mineraller ve önemi kapsamında bor elementi endokrin sistem, immun sistem ve beyinde de önemli işlevlere etki etmektedir [25]. Gürsoy ve Macit [26], bazı baklagil yem bitkilerinde B miktarının 5,91-40,39 ppm arasında değiştiğini bildirmiştir. Bulgularımız Gürsoy ve Macit [26] tarafından bildirilen B değerleri ile uyumludur.

Ca makro besin elementi ortalama değerleri incelendiğinde çalışmada türler arasında bir fark görülmezken, tür x bitki kısımları interaksyonunda oluşan farklılık önemli düzeydedir ($P \leq 0,01$). Bitkide en fazla Ca tüm bitki, yaprak ve sap kısımlarında olmuştur. Çalışmada kalsiyum değeri tür x bitki kısımları interaksyonuna göre 6019-7681 ppm arasında değişmiştir (Tablo 3). Ca hayvanların fizyolojik yaşamları için çok önemlidir. Noksanlığında; süt verimi ve doğurganlık oranında azalma görülmektedir [27]. Tajeda ve ark. [28], ruminant beslemesi için yem bitkilerinde en az 3,0 g kg⁻¹ Ca bulunması gerektiğini rapor etmiştir. Kidambi ve ark. [29], kaba yemlerde bulunması gereken Ca değerinin % 0,31 olduğunu bildirmiştir. NRC [30], yonca için Ca değerinin % 0,31 olduğunu bildirmiştir. Vosiljevic ve ark. [31], macar fiğinin yaprak, sap ve meyvesinde Ca içeriklerinin farklı olduğunu ve içeriklerin sırasıyla 3507-867-1680 mg 100 g⁻¹ olarak bildirmişlerdir. Gürsoy ve Macit [26], Ca içeriğinin baklagil türlerine göre % 0,56-1,61 oranları arasında değiştiğini saptamışlardır.

Cd ile ilgili ortalama değerler incelendiğinde Cd değerinin tür ve tür x bitki kısımları interaksyonu arasında bir fark olmadığı gözlemlenmektedir. Co ve Cr değeri incelendiğinde tür, tür x bitki kısımları interaksyonu arasında oluşan farkın önemli düzeyde olduğu görülmektedir ($P \leq 0,01$). Ortalama değerler incelendiğinde Co değeri en yüksek yemlik bakla (0,46 ppm) bitkisinin yaprak kısmında (0,34 ppm) saptanmıştır (Tablo 3). Co ruminant hayvanların zorunlu alması gereken iz elementler içerisinde yer almakta, vitamin B12 olarak tanımlanmaktadır. Vitamin B12 rumen sentezi için gereklidir [32]. Bitkilerde Co miktarı 0,0-

0,07 ppm kg^{-1} seviyesinden daha düşük olduğu durumlarda ruminantlarda noksanlık belirtileri ortaya çıktığı bildirilmiştir [33]. Noksanlık belirtileri; iştahsızlık, kilo kaybı, süt veriminde azalma ve anemi ortaya çıkmaktadır [32]. Co için toksik düzey ise 10 ppm olarak bildirilmiştir [30]. En yüksek Cr değeri ise yemlik baklada (2,18 ppm); yaprak, sap ve dal kısmında (1,69 ppm) gözlemlenmiştir.

Çalışmada en yüksek Cu değeri yemlik bakla bitkisinde (10,22 ppm), yaprak kısmında (9,87 ppm) saptanmıştır ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$). Bu ortalama değeri tüm bitki (8,64 ppm), sap (7,84 ppm) ve bitkinin dal kısmı (6,99 ppm) izlemiştir (Tablo 3). Ruminant hayvanlar için Cu çok önemlidir. Eksikliğinde; kıl ve yapağı yapısında bozukluk, büyüme geriliği, anemi, diyare, eklem bozuklukları ve fertilité bozukluklarına yol açmaktadır [34]. Baklagil yem bitkilerinde Cu içeriği % 6-13 [35] ve 2,22-12,36 ppm [26] olarak değiştiği rapor edilmiştir. Araştırmada, En yüksek Fe içeriği yemlik baklada yaprak kısmında saptanmıştır. Bitkinin diğer kısımları arasında önemli bir fark gözlenmemektedir ($P \leq 0,01$). Ortalama Fe içeriği türlere göre 118,2-249,7 ppm arasında, tür x bitki kısımları interaksiyonlarına göre 164,0-221,9 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 3). Fe hemoglobin yapısında görev almaktadır ve gebe olan hayvanlar demire fazla ihtiyaç duymaktadır. Noksanlığında; anemi, iştahsızlık ve buna bağlı olarak canlı ağırlık kaybı ortaya çıkabilmektedir. NRC [30], sığırların ihtiyacı olan Fe değerini 50 ppm olarak bildirmiştir. Baklagil yem bitkilerinde Fe içeriğini % 109-145 [35], 105,9-893,7 ppm [26] arasında değiştiği bildirilmiştir.

K ve Mg değerlerinde türler arasında bir fark bulunmazken, tür x bitki kısımları interaksiyonlarında önemli fark gözlenmiştir ($P \leq 0,01$). Tablo 3 incelendiğinde en yüksek K değerleri sırasıyla tüm bitki (16616 ppm), sap (16461 ppm) ve dal kısmında (15953 ppm), en düşük K değeri ise yaprak kısmında (14163 ppm) saptanmıştır. Ortalama değerlere göre; en yüksek Mg değeri tüm bitki (3526 ppm) kısmında saptanmıştır. Bu değeri 3257 ppm ile yaprak kısmı izlemiştir. NRC [30] tarafından sığırların beslemesi için % 0,65 K ve % 0,04 Mg gereksinim olduğunu bildirmiştir. Gürsoy ve Macit [26], baklagil türlerinde K içeriğinin % 0,70-2,69 ve Mg içeriğinin % 0,11-0,51 arasında değiştiğini bildirmiştir.

Mn hayvanlarda kemik gelişiminde rol oynamaktadır. Noksanlıkta; üreme ve iskelet sisteminde bozukluklar meydana gelmektedir [26]. Canlı ağırlığı 50 kg olan bir koyunun günlük 20-40 ppm Mn ihtiyaç duyduğu belirtilmiştir [36]. Gürsoy ve Macit [26], baklagil çeşitlerinde Mn içeriğinin 18,18-66,58 ppm arasında değiştiğini bildirmiştir. Araştırmamızda Mn içeriği türler incelendiğinde en yüksek yemlik bakla bitkisinde 26,17 ppm, tür x bitki kısımları interaksiyon incelendiğinde 27,55 ppm ile yaprak kısmında saptanmıştır ($P \leq 0,01$). Tablo 3 tür ve tür x bitki kısımları interaksiyonunun Na üzerine etkisinin çok önemli olduğu gözlenmektedir. En yüksek değerler türler arasında yemlik bakla bitkisinde (8289 ppm), tür x bitki kısımları interaksiyon

ortalamasında tüm bitki ve bitkinin dal kısmında (6723 ppm) saptanmıştır. Barnes [37], sığırlar için Na içeriğinin % 0,06-01 arasında olması gerektiğini bildirmiştir. NRC [38], koyun ve keçiler için kuru maddede % 0,1-0,08 Na içeriğinin olması gerektiğini rapor etmiştir.

Ni, ruminantlar için hem gerekli hem de toksik olduğu bilinmektedir. Ni üreazın bir bileşenidir ve ruminantların rumeninde meydana gelen birkaç bakteri türü için de gerekli olmaktadır. 0,1 mg kg^{-1} kuru maddenin altındaki miktarlarda Ni eksikliği semptomlarına yol açtığı bildirilmiştir [39]. Hayvanlarda nikel eksikliği düşük üreme oranları, glikoz ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler ile ilişkilendirilirken, nikel toksisitesi embriyo-toksik ve kanserojen etkilere sebep olduğu bildirilmiştir [40]. Çalışmamızda ortalama değerler incelendiğinde en yüksek Ni seviyesi yemlik bakla bitkisinde (8,12 ppm), tüm bitki (8,77 ppm) tespit edilmiştir (Tablo 3). P, hayvan vücudunda kalsiyumdan sonra en yüksek miktarda bulunan bir makro elementtir. P, iskeletin büyümesinde, diş gelişimi, kanın kimyasal yapısında, vücudun asit-baz dengesinde vitamin enzim aktivitelerinde çok önemli rol oynar. P bitkilerde % 0,02-0,08 arasında olup fosforca eksik topraklarda yetişen bitkilerde bu miktardan daha az bulunur [41]. Sığırların beslenmesi için ise % 0,23 P gerekli olduğu bildirilmiştir [30]. Gürsoy ve Macit [26], baklagil çeşitlerine göre P içeriğinin % 1,16-1,28 oranında değiştiğini rapor etmişlerdir. Araştırmamızda P miktarında türler arasında önemli ($P \leq 0,05$), tür x bitki kısımları arasında çok önemli bir fark gözlenmektedir ($P \leq 0,01$). P miktarı; en yüksek yemlik bakla bitkisinde (3173 ppm), yaprak (3428 ppm) ve tüm bitki olarak incelediğimiz ölçümlerde saptanmıştır. En az P içeriği bitkilerin dal kısmından elde edilmiştir (Tablo 3).

Çalışmamızda Pb miktarı türler ve tür x bitki kısımları interaksiyon varyans analiz sonucuna göre önemli çıkmamıştır. Araştırmada Pb değeri 1,19-1,37 ppm arasında değişmiştir (Tablo 3). Tarım ve Orman Bakanlığı'nın kaba yemlerde Pb üst sınır miktarı 30 ppm olarak rapor etmiştir [42]. Yemlik bakla ve yemlik bezelye Pb değerleri, Bakanlık tarafından bildirilen değerlerin altında çıkmıştır. Zn, hücre solunumu, ikincil oksijen kullanımı, DNA ve RNA, hücre zarının bütünlüğü, serbest radikallerin uzaklaştırılması, canlıların büyüme ve gelişmesinde, immun sisteminde görev yapan bir iz mineraldir [43]. Barnes [37], sığırlar için Zn gereksinimin 20-40 ppm olması gerektiğini bildirmiştir. NRC [30], ise Ruminantlar da Zn gereksinimi 18-73 ppm ve ortalama olarak 40 ppm olduğu belirtmiştir. Gürsoy ve Macit [26], baklagil bitkilerinde Zn çeşitlere göre 14,11-195 ppm arasında değiştiğini bildirmiştir. Çalışmada ortalama Zn içeriği en yüksek yemlik bezelye bitkisinde 16,84 ppm ($P \leq 0,05$), yaprak kısmında 18,93 ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). Tüm bitki değerleri ele alındığında; yemlik bezelye 22,58 ppm Zn içeriği ile NRC [30] ve Gürsoy ve Macit [26] tarafından bildirilen değer ile uyumlu bulunmuştur.

Tablo 3. Yemlik bezelye ve yemlik bakla bitki kısımlarının makro-mikro besin elementi içeriklerine etkisi (ppm)

Bitki Türleri	Bitki Kısımları				Ortalama
	Tüm Bitki	Yaprak	Sap	Dal	
Al					**
Y. Bakla	171	393	277	334	294 ^a
Y. Bezelye	152	109	78	72	103 ^b
Ortalama**	161 ^c	251 ^a	178 ^c	203 ^b	
B					**
Y. Bakla	15,1	14,6	19,7	15,0	16,1 ^a
Y. Bezelye	13,0	12,0	11,7	11,3	11,9 ^b
Ortalama**	14,0 ^b	13,3 ^b	15,7 ^a	13,1 ^b	
Ca					öd
Y. Bakla	4905	7184	8354	6633	6769
Y. Bezelye	10457	7134	5441	5404	7109
Ortalama**	7681 ^a	7159 ^a	6897 ^a	6019 ^b	
Cd					öd
Y. Bakla	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01
Y. Bezelye	0,01	0,02	0,01	0,03	0,10
Ortalama**	0,01	0,01	0,01	0,02	
Co					**
Y. Bakla	0,32	0,60	0,42	0,49	0,46 ^a
Y. Bezelye	0,13	0,09	0,06	0,06	0,08 ^b
Ortalama**	0,23 ^b	0,34 ^a	0,24 ^b	0,28 ^{ba}	
Cr					**
Y. Bakla	1,41	2,43	2,45	2,42	2,18 ^a
Y. Bezelye	1,21	0,95	0,94	0,84	0,98 ^b
Ortalama**	1,31 ^b	1,69 ^a	1,69 ^a	1,63 ^a	
Cu					*
Y. Bakla	8,52	11,87	10,10	10,38	10,22 ^a
Y. Bezelye	8,78	8,10	5,58	3,59	6,51 ^b
Ortalama**	8,64 ^{ba}	9,87 ^a	7,84 ^{ba}	6,99 ^b	
Fe					**
Y. Bakla	162,6	327,0	222,2	287,1	249,7 ^a
Y. Bezelye	173,1	116,9	105,8	76,9	118,2 ^b
Ortalama**	167,9 ^b	221,9 ^a	164,0 ^b	182,0 ^b	
K					öd
Y. Bakla	16550	13051	19118	15171	15972,3
Y. Bezelye	16681	15276	13804	16735	15624,0
Ortalama**	16616 ^a	14163 ^b	16461 ^a	15953 ^a	
Mg					öd
Y. Bakla	2089	3274	4034	2589	2996
Y. Bezelye	4965	3239	2133	2488	3206
Ortalama**	3526 ^a	3257 ^{ba}	3084 ^b	2538 ^c	
Mn					**
Y. Bakla	14,45	39,09	23,10	28,04	26,17 ^a
Y. Bezelye	28,77	16,02	10,13	9,91	16,21 ^b
Ortalama**	21,60 ^b	27,55 ^a	16,61 ^c	18,97 ^{cb}	
Na					**
Y. Bakla	12302	3679	9831	7345	8289 ^a
Y. Bezelye	1143	1292	971	1658	1266 ^b
Ortalama**	6723 ^a	2486 ^d	5401 ^b	6723 ^a	
Ni					**
Y. Bakla	14,07	6,20	7,93	4,28	8,12 ^a
Y. Bezelye	3,48	3,14	7,95	2,07	4,16 ^b
Ortalama**	8,77 ^a	4,67 ^c	7,94 ^b	3,17 ^d	
P					*
Y. Bakla	2630	3615	3435	3013	3173 ^a
Y. Bezelye	4183	3240	2389	2120	2983 ^b
Ortalama**	3406 ^a	3428 ^a	2912 ^b	2567 ^c	
Pb					öd
Y. Bakla	1,36	1,24	1,41	0,76	1,19
Y. Bezelye	1,14	1,23	1,14	1,97	1,37
Ortalama**	1,25	1,23	1,28	1,37	
Zn					*
Y. Bakla	11,03	20,53	15,48	16,20	15,81 ^b
Y. Bezelye	22,58	17,33	13,16	14,31	16,84 ^a
Ortalama**	16,80 ^b	18,93 ^a	14,31 ^c	15,25 ^c	

**P<0,01önemli, *P<0,05 önemli, öd: önemli değil.

4. SONUÇ

Yem bitkisi olarak hayvan beslemede kullanılan yemlik bakla ve yemlik bezelyenin kimyasal özellikleri ve makro ve mikro mineral içeriklerini tespit etmek için yapılan bu araştırma, baklagil yem bitkilerinin kendi aralarında ve bu bitkilere ait farklı bitki kısımlarında kalite ve mineral madde içeriği yönünden önemli farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur. Araştırmada, kuru madde oranı ve ham protein oranı bakımından yemlik bezelyenin yemlik bakladan daha üstün olduğu buna karşılık ham kül oranı bakımından yemlik baklanın yemlik bezelyeden daha üstün olduğu görülmüştür. Bitkilerinin farklı kısımlarının makro ve mikro element içerikleri bakımından detaylı araştırmalar yapılmadığı anlaşılmaktadır. Özellikle bitkilerde fotosentezin ana merkezi olan yaprağın diğer bitki kısımlarına göre çok önemli fonksiyonları ve özellikleri olduğu görülmektedir. Bitkilerin kimyasal özellikleri açısından yaprağın diğer kısımlara göre ciddi bir üstünlük gösterdiği, yine yaprağın diğer bitki kısımlarına göre birçok elementi daha fazla oranda ihtiva ettiği görülmüştür. Bu sebeple hayvan beslemede kullanılan yem bitkilerinin özellikle yaprakları kurutulurken ve depolanırken iyi muhafaza edilmeli ve zayı olması engellenmelidir. Çalışmanın bu alanda yapılacak çalışmalara ışık tutacak bir kaynak olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Tan M, Serin Y. Baklagil yem bitkilerinin tarımsal özellikleri, ekonomik önemleri, taksonomileri ve genel yapısal özellikleri. Yem bitkileri, cilt 2, 2009; 277-289.
- [2] Açıkgöz E, Katkat AV, Ömeroğlu S, Okan B. Mineral elements and amino acid concentrations in field pea and common vetch herbage and seeds. Z. Acker-und Pflanzenbau (J. Agronomy & Crop Science). 1985;155, 179-185.
- [3] Geisler G. Pflanzenbau, Institutes Für Pflanzenbau Und Pflanzenzüchtung Der Christian- Albrechts-Universität Kiel. 1987.
- [4] Geren H, Avcıoğlu R, Kavut YT. Yemlik bakla (*Vicia faba var. minor* L.) . Yem bitkileri, cilt 2, Bölüm 14, 2009;435-439.
- [5] Alçiçek A, Karaayvaz K. Sığır besisinde mısır silajı kullanımı. Animalia. 2003; 20(3):18-76.
- [6] Sarıbay MK, Özsoy B. Sütçü ineklerde bakır, çinko ve selenyumun fertilité açısından önemi. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi. 2019; 8(1):36-45.
- [7] Kaplan M, Kamalak A, Özkan ÇÖ, Atalay AI. Vejetasyon döneminin yabancı korunga otunun potansiyel besleme değerine, metan üretimine ve kondense tanen içeriğine etkisi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2014; 3(1) 1-5.
- [8] Kamalak A. Determination of potential nutritive value of *Polygonum aviculare* hay harvested at three maturity stages. J Appl Anim Sci. 2010; 38:69-71.
- [9] Kamalak A, Atalay AI, Ozkan CO, Kaya K, Tatlıyer A. Determination of nutritive value of

- Trigonella kotschi* Fenz hay harvested at three different maturity stages. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2011; 17(4):635–640.
- [10] Üke Ö, Kale H, Kaplan M, Kamalak A. Olgunlaşma döneminin kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)’da ot verimi ve kalitesi ile gaz ve metan üretimine etkisi. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi. 2017; 20(1):42-46.
- [11] Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant (2nd Ed.). Cornell Uni. press., Ithaca, N.Y., 1994; 7-21.
- [12] Gralak MA, Bates DL, Von Keyserlingk MSG, Fisher LJ. Influence of species, cultivar and cut on the micro element content of grass forages. Slovak J Anim Sci. 2006; 39:84-88
- [13] Küçük Ç, Cevheri C, Polat T, Avcı M. Şanlıurfa (Akabe mevki) doğal mera bitkilerinin besin elementleri içerikleri ve toprakların mikrobiyal biyomas c, fungal ve bakteriyel biyomas c değerlerinin belirlenmesi. Harran Üniversitesi Vet. Fak. Dergisi. 2016; 5(2):129-134
- [14] Anonim. Kahramanmaraş, Meteoroloji Genel İl Müdürlüğü. 2019.
- [15] AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Method of Analysis. 15th.ed. Washington, DC. USA. 1990. p. 66-88.
- [16] Jones JJB, Case VW. Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples, chapter 15. In R.L. Westerman (ed) Soil Testing and Plant Analysis, Third Edition, SSSA, Madison, Wisconsin, USA, 1990. P. 390-420.
- [17] Kuo S. Phosphorus in D.L. Sparks (Ed) Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, SSSA Book Series Number 5, SSSA., Madison, WI, 1996; 869–921.
- [18] Uzun A, Gün H, Açıkgöz E.. Farklı gelişme dönemlerinde biçilen bazı yem bezelyesi (*Pisum sativum* L.) çeşitlerinin verim ve kalite özellikleri. IX. Tarla Bitkileri Kongresi Çayır Mera ve Yem Bitkiler Cilt III. Bursa. 2011. p.1707- 1707
- [19] Kocer A, Albayrak S. Determination of forage yield and quality of pea (*Pisum sativum* L.) mixtures with oat and barley. Turkish Journal of Field Crops. 2012; 17(1):96-99.
- [20] Canbolat Ö, Kara H, Filya İ. Bazı baklagil kaba yemlerinin in vitro gaz üretimi, metabolik enerji, organik madde sindirimi ve mikrobiyal protein üretimlerinin karşılaştırılması. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2013; 27(2):71-81
- [21] Jung HG, Sheaffer CC, Barnes DK, Halgerson JL. Forage quality variation in the U.S. alfalfa core collection. Crop Science. 1997; 37:1361-1366.
- [22] Açıkgöz E. Yem Bitkileri. (III. Baskı) Uludağ Üniv. Güçlendirme Vakıf Yayın No: 182. VİPAŞ AŞ. Yayın No: 58. Bursa. 2001
- [23] Ball DM, Collins M, Laceyfield GD, Martin NP, Mertens DA, Olson KE, Putnam DH, Undersander DJ, Wolf MW. Understanding Forage Quality. American Farm Bureau Federation Pub., Park Ridge, IL. 2001.
- [24] Nesheim L. Herbage quality of *Elytricia repens*, *Agrosti capillaris* and *Phalaris arundinacea*. Soil Grassland. Animal Relationships in: Proc. 13th General Meeting of the European Grassland Federation. 1990; 2:91-95
- [25] Nielsen FH. Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel and arsenic: current knowledge and speculation. FASEB J. 1991. 5:2661-2667.
- [26] Gürsoy E, Macit M. Erzurum ili çayır ve meralarında doğal olarak yetişen bazı buğdaygil yem bitkilerinin nispi yem değerleri bakımından karşılaştırılması. YYÜ Tar Bil Der.2017; 27(3):309-317.
- [27] Goff JP. Dry cow nutrition and metabolic disease in parturient cows. Proceeding Western Canadian Dairy Seminar Red Deer. 1999.
- [28] Tajeda R, McDowell LR, Martin FG, Conrad JH. Mineral element analyses of various tropical forages in Guatemala and their relationship to soil concentrations. Nutrition Reports International. 1985; 32: 313-324
- [29] Kidambi SP, Matches AG and Gricgs TC. Variability for Ca, Mg, K, Cu, Zn, and K/(Ca +Mg) ratio among 3 wheat grasses and sainfoin on the southern high plains. J. of Range Management. 1989; 42: 316-322.
- [30] National Research Council (NRC). In: Nutrients requirement of dairy cattle, 7th rev. ed. The National Academies Press, Washington D.C. 2001.
- [31] Vasiljevic S, Milic D, Milic A. Chemical attributes and quality improvement of forage legumes. Biotechnology in animal Husbandry. 2009; 25: 493-504.
- [32] Stangl GI, Schwarz FJ, Kirchgessner M Moderate longterm cobalt deficiency affects liver, brain, and erythrocyte lipids and lipoprotein of cattle. Nutrition Research. 1999; 19 (3): 415-427.
- [33] İmren HY, Şahal M Veteriner İç Hastalıkları Kitabı, Feryal Yayıncılık, Ankara, 1991.
- [34] Spitzer JC. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. Current Therapy in Theriogenology. DA Morrow (editör). Baskı 2. W.B. Saunders, Toronto. 1986. p. 322-323.
- [35] Zia Ul Haq M, Shahid SA, Ahmad S, Qayum M, Rasool N. Mineral Contents and Antioxidant Potential of Selected Legumes of Pakistan. J. of Medical Plants Research. 2012; 6(32):4735-4740.
- [36] National Research Council (NRC). Nutrient requirement of Sheep. Sixth Revised Ed., National Academy Press, Washington, D.C.1985. p. 1-99
- [37] Barnes TG, Varner LW, Blankenship LH, Fillinger TJ, Heineman SC. Macro and trace mineral content of selected South Texas deer forages. Journal of Range Management. 1990; 43: 220-223.
- [38] National Research Council (NRC). Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Research Council of the National Academies, Washington DC. 2007.
- [39] Anke M, Angelow L, Gleit M, Müller M, Illing H. The biological importance of nickel in the food chain. Fresenius J Anal Chem. 1995; 352:92-96
- [40] Samal L, Mishra C, Significance of nickel in livestock health and production. IJAVMS. 2011; 5(3):349-361.

- [41] Olgun H, Ünal S. Hayvan beslemede fosfor. Lalahan Zoo. Arş. Ens. Der. 1983; 23(1-2): 61-64.
- [42] Resmi Gazete. Yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğde değişiklik yapılmasına dair tebliğ. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. Gazete Tarihi: 19.04.2014 Resmî Gazete Sayısı: 28977.
- [43] Fidancı UR. Yurdumuz hayvanlarında iz element noksanlıkları. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi. 1986; 56(1):37-44.



Tokat ve Yozgat Bölgelerinden Toplanan Bazı Yenilebilir Mantarların Antimikrobiyal Potansiyeli Üzerine Bir Araştırma

Hakan IŞIK¹, İsa KARAMAN², İbrahim TÜRKEKUL^{3*}

¹ Tokat M. Emin Saraç Anadolu İmam Hatip Lisesi, 60030, Tokat, Türkiye

² Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 60240, Tokat, Türkiye

³ Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 60240, Tokat, Türkiye

Hakan IŞIK ORCID No: 0000-0001-8241-0078

İsa KARAMAN ORCID No: 0000-0001-5663-8941

İbrahim TÜRKEKUL ORCID No: 0000-0002-1036-9835

*Sorumlu yazar: ibrahim.turkekul@gop.edu.tr

(Alınış: 24.03.2020, Kabul: 04.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal aktivite,
Disk difüzyon test,
Makrofungus,
Tokat,
Yozgat

Öz: Günümüzde mantarların kimyasal yapısını tespit etmeye yönelik yapılan çalışmalar, vitamin, mineral, protein, esansiyel amino asitler ve doymamış yağ asitleri bakımından değerli besinler olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca üretmiş oldukları kimyasal maddeler birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle biyoteknoloji, tıp ve farmakoloji alanında yapılan çalışmalar giderek artmıştır. Bu çalışmada Tokat ve Yozgat yörelerinden toplanan *Agaricus campestris* L., *Morchella esculenta* (L.) Pers., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. mantarlarının çeşitli ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu ile test edilmiştir. Çalışma sonunda, mantarlardan elde edilen ekstraktların bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteriler (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Streptococcus pyogenes*) ve bazı mikrofunguslar (*Candida albicans*, *Candida utilis*) üzerinde farklı derecelerde antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir.

A Study on Antimicrobial Potential of Some Wild Edible Mushrooms Collected from Tokat and Yozgat Regions

Keywords

Antimicrobial activity,
Disc diffusion test,
Macrofungi,
Tokat,
Yozgat

Abstract: Nowadays, studies made to determinate the chemical structure of mushrooms have revealed that they are valuable nutrients in terms of vitamins, minerals, proteins, essential amino acids and unsaturated fatty acids. In addition, the chemicals that they produce are used in many industrial fields. Especially studies made in the field of biotechnology, medicine and pharmacology have increased in recent years. In this study, antimicrobial activities of various extracts of *Agaricus campestris* L., *Morchella esculenta* (L.) Pers., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. collected from Tokat and Yozgat provinces has been tested by disk diffusion method. At the end of the study, it was determined that the extracts obtained from the mushrooms had antimicrobial activity at different degrees on some Gram (+) and Gram (-) bacteria (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Streptococcus pyogenes*) and some microfungi (*Candida albicans*, *Candida utilis*).

1. GİRİŞ

Mantarlar dünyada tür çeşitliliği en fazla olan canlılardan biridir. Dünya genelinde yayılış gösteren 1.5 milyon mantar türü olduğu tahmin edilmektedir. Ancak bunlardan çok az bir kısmı şimdiye kadar tespit

edilebilmiştir. Tespit edilen mantarların yaklaşık 10 bin türünü makromantarlar oluşturmaktadır. Bunlardan 5020'si yenir özellikte ve 1820' ise tıbbi özellik gösteren makromantarlardır [1,2].

Mantarlar ve bitkiler uzun yıllardan beri dünya çapında geleneksel ilaçlar olarak terapötik amaçlar için

kullanılmıştır. Günümüzde doğal-sentetik antibiyotikler patojen mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarda tedavi edici amaçlı tercih edilmektedir. Ancak mikroorganizmaların bu ilaçlara direnç kazanması halk sağlığı açısından büyük problemlere neden olmaktadır. Bu olay, bitki ve mantarların ürettiği doğal antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi çalışmalarını hızlandırmıştır. Ormanlık ve çayır alanlarda doğal olarak yetişen veya kültürü yapılarak elde edilen mantarlar polisakkaritler, glikopeptitler, alkaloidler, terpenler, triterpenoidler, saponinler, fenolik bileşikler, lektinler, flavonoidler, şizofillan, lentinan, β -glukan gibi maddeler içermektedir [3]. Mantarların genellikle düşük molekül ağırlıklı ikincil metabolitler olarak isimlendirilen maddeler ürettiği bilinmektedir. Bunlar birincil metabolik yolların sonunda üretilen maddelerden sentezlenirler. Genellikle kendilerinin büyüme, gelişme ve üreme gibi fizyolojik olaylarında rol almayan ve hücre dışına salgılanan bu maddelerin antimikrobiyal aktivite özelliği vardır. Ayrıca sıcaklık, ultraviyole ışınımı, nem, tuzluluk, pH ve su konsantrasyonu gibi çevresel stresler mantarların fizyolojisini ve metabolik yollarını önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Mantarların ürettiği sekonder metabolitler ile ilgili çalışmalar 1928'de Alexander Fleming'in penisilini keşfetmesiyle artarak günümüze kadar gelmiştir. Son yıllarda bu maddeler ile ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalardan bazılarını antimikrobiyal aktivite testleri oluşturmaktadır. Ülkemizde mantarların terapötik amaçlar için kullanımından daha çok beslenme amaçlı olarak tüketimi daha yaygındır. Bu yüzden yenen mantarların antimikrobiyal, antiviral, antikanser, antioksidant gibi biyolojik aktivitelerini tespit etmek önem kazanmış ve bununla ilgili çalışmalar giderek artmıştır [3,4].

Bu çalışmadaki amacımız Tokat ve Yozgat illerinde farklı lokalitelerden toplanan yenen makromantarlar olan *P. ostreatus*, *T. terreum*, *A. campestris* ve *M. esculenta*'nın bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ile bazı mikrofunguslar üzerine olan antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmektir.

2. MATERYAL VE METOT

P. ostreatus, *T. terreum*, *A. campestris* ve *M. esculenta* olarak teşhis edilen mantar örnekleri 2014-2018 yılları arasında gerçekleşen arazi gezileri sırasında Tokat ve Yozgat illerinin farklı lokalitelerinden toplanmıştır. Mantar örneklerine ait bazı özellikler Tablo 1'de verilmiştir.

Arazi gezileri sırasında tespit edilen mantar örneklerinin Canon EOS 600D marka fotoğraf makinesi ile renkli fotoğrafları çekilmiş, morfolojik ve ekolojik özellikleri not edilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden spor izi alınmış ve kurutulmuştur. Mantar örneklerinin mikroskopik özellikleri kuru örnekler kullanılarak elde edilmiştir. Bunun için bazı kimyasallar (distile su, KOH%5, kongo kırmızısı, laktofenol gibi) ve Nikon marka araştırma mikroskopu kullanılmıştır. Morfolojik ve ekolojik özellikleri ortaya çıkarılan mantarlar mevcut literatür [5,6,7,8,9,10,11] yardımıyla teşhis edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivitesi test edilen makromantarın sistematığı Index Fungorum'a uygun olarak yazılmıştır [12]. Mantar ekstraktlarının hazırlanması işleminde Soxhlet cihazı kullanılmıştır. Toz haline getirilen her bir mantar örneğinden 10 gr. alınmış ve sırasıyla aseton, etanol ve etil asetat çözücülerini kullanarak cihazda ekstraksiyona tabii tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlar, rotary evaporatör kullanılarak 40°C'de konsantre edilmiş ve + 4°C'de saklanmıştır. Antimikrobiyal aktivite testinde disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır [13].

Tablo 1. Mantar türlerine ait bazı özellikler

Mantar Türleri	Familya	Lokaliteler
<i>A. campestris</i>	<i>Agaricaceae</i>	Tokat-Akbelen yaylası, çayır alan Yozgat-Kadışehri, meşe ormanı çayır alan
<i>M. esculenta</i>	<i>Morchellaceae</i>	Tokat-Yaylacık dağı-Orman deposu, <i>Pinus sylvestris</i> ormanı Yozgat-Akdağmadeni, <i>Pinus sylvestris</i> ormanı
<i>P. ostreatus</i>	<i>Pleurotaceae</i>	Tokat merkez- Akbelen köyü, karışık orman Yozgat-Kadışehri, meşe ormanı
<i>T. terreum</i>	<i>Tricholomataceae</i>	Tokat merkez, <i>Pinus sylvestris</i> ormanı Yozgat-Akdağmadeni, <i>Pinus sylvestris</i> ormanı

Mikrofunguslar ve bakteriler için besi yeri olarak Mueller Hinton Agar kullanılmıştır. Daha önce hazırlanan bakteri ve mikrofungus süspansiyonlarından 0.1 ml alınarak besi yerine ekilmiş, ekstraktlardan 20 µl emdirilmiş 6 mm çapındaki diskler belirli aralıklarla besi yerine yerleştirilmiştir. Bakteriler için Sulbactam/Cefoperazone (SCF 105 µg) ve mikrofunguslar için Nistatin (100 µg) bulunduran diskler karşılaştırma amacıyla besi yerlerine yerleştirilmiştir. Bakteri aşılama petri 37°C'de 24 saat, maya süşunun aşılama petri ise 28°C'de 3-4 gün süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda petri kaplarında disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülmüştür. Zon çapları çok küçük olan sonuçlar dikkate alınmamıştır. Çalışmalar 3 tekrar şeklinde yapılmıştır. Aseton, etanol ve etil asetat çözücülerini negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler SPSS (versiyon 17.0) yazılımı ile analiz edilmiştir. Mantarlardan elde edilen ekstraktların ve antibiyotiklerin oluşturduğu zon çapları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada Tokat ve Yozgat illerinde yapılan arazi gezileri sırasında doğal ortamlarından toplanan yenilebilir *P. ostreatus*, *T. terreum*, *A. campestris* ve *M. esculenta*'nın antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri disk difüzyon metodu ile test edilmiştir. Boş antibiyotik disklere emdirilen mantar ekstraktlarının besi yerinde oluşturduğu zon çapları ve karşılaştırma için kullanılan antibiyotiklerin oluşturduğu zon çapları Tablo 2'de

gösterilmiştir. Çalışmanın sonucunda *P. ostreatus*, *T. terreum*, *A. campestris* ve *M. esculenta* makromantarlarının Tokat yöresinden toplanan örnekleri ile Yozgat yöresinden toplanan örneklerinden elde edilen ekstraktların farklı derecelerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

P. ostreatus'un Tokat'tan toplanan örneklerinde oluşan zon çaplarının minimum 6.50 ± 0.50 mm, maksimum 14.00 ± 1.00 mm; Yozgat'tan toplanan örneklerinde ise minimum 9.00 ± 0.00 mm, maksimum 14.00 ± 0.86 mm olduğu tespit edilmiştir. Yozgat yöresinden toplanan *P. ostreatus*'un etil asetat ekstraktlarının *B. cereus* ve *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığı, Tokat yöresinden toplanan örneklerin ise düşük aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Hem Yozgat hem de Tokat'tan toplanan örneklerin aseton ekstraktlarının ise *P. aeruginosa* üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olmadığı gözlenmiştir. Tokat yöresinden toplanan *P. ostreatus*'un aseton ekstraktlarının *B. subtilis*, *S. enteritidis*, *S. pyogenes*, *C. albicans* ve *C. utilis* üzerinde, etanol ekstraktlarının ise *P. vulgaris*, *S. Enteritidis* ve *S. pyogenes* üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yozgat yöresinden toplanan *P. ostreatus*'un aseton ekstraktlarının *B. subtilis*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. pyogenes*, *C. albicans* ve *C. utilis* üzerinde; etanol ekstraktlarının ise *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *S. enteritidis*, *S. aureus* ve *C. albicans* üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Yozgat yöresinden toplanan *P. ostreatus*'un etil asetat ekstraktlarının, Tokat yöresinden toplanan örneklerden elde edilen etil asetat ekstraktlarına göre test mikroorganizmaları üzerinde daha fazla etkili olmuştur (Tablo 2).

Tokat'tan toplanan *T. terreum* örneklerinde minimum 6.50 ± 0.86 mm, maksimum 15.50 ± 0.86 mm; Yozgat'tan toplanan örneklerinde ise minimum 6.66 ± 0.57 mm, maksimum 16.00 ± 1.00 mm zon çapı tespit edilmiştir. Tokat yöresinden toplanan *T. terreum*'dan elde edilen aseton ve etanol ekstraktların *P. vulgaris* üzerinde, aseton ekstraktının ise *S. aureus* üzerinde etkili olmadığı görülmüştür. *P. aeruginosa* üzerinde etil asetat, *S. pyogenes* üzerinde ise etanol ekstraktları etkili olmamıştır. Makromantardan elde edilen ekstraktlar diğer mikroorganizmalar üzerinde farklı derecelerde etkili olmuştur. *B. cereus* üzerinde tüm ekstraktlar kuvvetli aktivite göstermiştir. Yozgat'tan toplanan *T. terreum* örneklerinden elde edilen etil asetat ekstraktı *P. aeruginosa* ve *S. aureus* üzerinde, etanol ekstraktı *S. pyogenes* üzerinde, aseton ekstraktı ise *S. aureus* üzerinde etkili olmamıştır. Diğer mikroorganizmalar üzerinde farklı zon çapları ile zayıf etkiden kuvvetli etkiye kadar değişik derecelerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Mantarın tüm ekstraktları, Tokat örneklerinde olduğu gibi *B. cereus* üzerinde kuvvetli antimikrobiyal etki göstermiştir.

A. campestris'in Tokattan toplanan örneklerinde minimum 6.66 ± 0.57 mm, maksimum 13.66 ± 0.57 mm; Yozgat'tan toplanan örneklerinde ise minimum 7.00 ± 0.00 mm, maksimum 15.00 ± 0.00 mm zon çapı tespit edilmiştir. Tokat yöresinden toplanan *A.*

campestris örneklerinden elde edilen aseton ekstraktlarının *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* üzerinde yeterli zon çapı oluşturamadığı; *B. cereus* ve *S. aureus* üzerinde ise düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yine bu mantar örneklerinin etil asetat ekstraktlarının *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *C. albicans* ve *C. utilis* üzerinde etkili olmadığı görülmüştür. Bu ekstraktlar diğer mikroorganizmalar üzerinde değişik zon çapları oluşturabilmiştir. Etanol ekstraktlarının tüm bakteriler üzerinde farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. *A. campestris*'in Yozgat'tan toplanan örneklerinin aseton ekstraktlarının *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* üzerinde; etil asetat ekstraktlarının *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *S. pyogenes*, *C. albicans* ve *C. utilis* üzerinde etkili olmadığı görülmüştür.

M. esculenta'nın Tokattan toplanan örneklerinde minimum 8.33 ± 0.57 mm, maksimum 15.83 ± 1.25 mm; Yozgat'tan toplanan örneklerinde ise minimum 6.66 ± 0.57 mm, maksimum 16.16 ± 1.04 mm zon çapı tespit edilmiştir. *M. esculenta*'nın Tokat yöresinden toplanan örneklerinde aseton ve etanol ekstraktları tüm mikroorganizmalar üzerinde etkili olmuştur. Ancak etil asetat ekstraktı *S. pyogenes*, *C. albicans* ve *C. utilis* üzerinde etki göstermemiştir. Diğer mikroorganizmalar üzerinde farklı büyüklükte zon çapı oluşturarak etkili olmuştur. Bu makromantarın Yozgat'tan toplanan örneklerin etil asetat ekstraktı *S. pyogenes* üzerinde zayıfta olsa antimikrobiyal etki gösterirken, Tokat'tan toplanan örnekler yeterli büyüklükte zon çapı oluşturamamıştır (Tablo 2).

4. SONUÇ

Mevcut çalışmada doğal ortamlarından toplanan yenen dört farklı makromantar türünün antimikrobiyal aktiviteleri, on patojenik organizmaya karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Tablo 2'de farklı çözücüler (aseton, etanol ve etil asetat) kullanarak elde edilen mantar ekstraktlarının zon çapları verilmiştir.

Vamanu ve ark. [14] çalışmalarında *Pleurotus ostreatus*'un kültür formundan elde edilen etanol ekstraktlarının *E.coli*, *B. cereus* ve *Listeria innocua* üzerinde 10-20 mm arasında değişen zon çapı ile antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda doğal ortamdan toplanan *Pleurotus ostreatus*'un etanol ekstraktları *E.coli* ve *B. cereus* üzerinde 9.00 ± 1.00 - 11.50 ± 0.86 arasında değişen zon çapı oluşturarak etkili olmuştur.

Singha ve ark. [15] tarafından yapılan çalışmada *Pleurotus ostreatus*'un aseton ekstraktının *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumonia* patojenlerine karşı dikkate değer antibakteriyel etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise bu mantardan elde edilen aseton ekstraktları *S. aureus* patojenine karşı 10.33 ± 0.28 ve 11.00 ± 0.00 mm zon çapları oluşturmuştur.

Tablo 2. Mantar ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi (mm)

Mantar Örneklere	Kullanılan çözücüler	Bakteriler										Mantarlar			
		<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. utilis</i>				
<i>P. ostreatus</i> (Tokat örneği)	aseton	9.16±0.28	11.66±1.52	10.50±0.00	10.16±0.76	-	14.00±1.00	10.33±0.28	11.66±0.57	12.66±1.55	11.83±1.25				
	etanol	9.00±1.00	10.00±0.00	9.50±0.50	12.00±0.00	10.16±0.29	13.66±0.57	11.00±0.00	11.50±0.50	11.50±0.50	12.00±0.00				
	etil asetat	6.50±0.50	8.66±0.28	6.83±0.28	9.33±0.57	8.83±0.28	8.16±1.04	9.00±0.00	9.16±1.41	8.66±0.57	10.33±0.76				
<i>P. ostreatus</i> (Yozgat örneği)	aseton	11.00±0.00	13.00±0.00	12.00±1.73	10.50±0.50	-	14.00±0.86	11.00±0.00	12.16±0.76	13.00±1.00	12.33±0.57				
	etanol	11.50±0.86	13.16±0.28	11.00±0.00	14.00±0.50	11.00±0.00	13.16±0.76	11.83±1.25	11.00±0.00	12.33±0.57	10.00±0.00				
	etil asetat	-	10.00±0.50	-	9.00±0.00	10.66±1.15	9.83±0.76	10.16±0.76	10.00±1.00	10.00±0.00	10.50±0.50				
<i>T. terreum</i> (Tokat örneği)	aseton	15.16±1.04	10.50±0.86	11.00±0.00	-	6.83±0.76	12.50±0.50	-	10.83±0.28	11.33±0.57	12.00±0.00				
	etanol	15.50±0.86	12.16±0.28	13.83±0.76	-	9.50±0.50	13.50±1.50	6.50±0.86	-	12.66±1.52	10.33±0.28				
	etil asetat	12.16±1.25	10.00±0.00	8.33±0.57	6.83±1.04	-	10.00±0.00	6.66±0.28	7.33±1.15	8.16±0.76	9.83±0.28				
<i>T. terreum</i> (Yozgat örneği)	aseton	16.00±1.00	12.00±0.00	10.00±0.50	8.00±0.00	7.83±1.60	10.66±0.57	-	10.00±0.00	12.50±0.50	12.50±0.50				
	etanol	16.00±0.00	12.33±0.57	14.66±1.52	9.00±0.00	11.16±0.76	15.00±0.00	8.00±0.00	-	12.83±1.89	11.83±0.76				
	etil asetat	14.50±0.50	10.33±0.15	10.16±1.04	6.66±0.57	-	11.83±0.76	-	9.00±0.00	10.16±0.28	11.00±0.00				
<i>A. campestris</i> (Tokat örneği)	aseton	6.66±0.57	9.83±0.28	-	-	-	10.16±0.76	6.83±0.28	11.00±1.73	9.33±1.55	9.83±0.28				
	etanol	11.00±1.5	10.50±0.86	10.66±0.57	10.33±1.15	11.33±1.52	13.66±0.57	12.50±0.50	9.16±1.04	9.66±0.57	10.50±0.86				
	etil asetat	-	6.66±0.76	9.00±0.86	7.66±0.57	-	-	8.00±1.00	7.00±0.00	-	-				
<i>A. campestris</i> (Yozgat örneği)	aseton	7.00±0.00	12.00±0.00	-	-	-	10.83±0.28	-	12.00±0.00	11.00±0.00	11.33±0.57				
	etanol	12.66±0.57	12.33±1.52	12.16±0.28	10.83±0.28	12.83±1.25	15.00±0.00	12.66±0.57	11.66±1.15	12.00±0.50	12.00±0.00				
	etil asetat	-	-	9.00±0.00	8.00±0.00	-	-	8.33±1.55	-	-	-				
<i>M. esculenta</i> (Tokat örneği)	aseton	10.66±1.55	12.00±0.50	12.83±0.28	11.83±1.44	12.00±0.00	12.00±1.73	11.50±0.86	8.33±0.57	12.83±1.04	12.33±0.57				
	etanol	14.50±1.32	12.16±1.44	13.83±0.76	14.83±0.76	9.50±0.50	13.50±0.86	15.83±1.25	13.00±1.73	14.66±0.57	13.00±1.00				
	etil asetat	9.33±0.57	9.00±0.00	9.33±1.15	13.66±1.15	13.66±0.57	9.00±0.00	9.16±0.28	-	-	-				
<i>M. esculenta</i> (Yozgat örneği)	aseton	11.00±0.00	10.00±0.00	14.33±0.28	13.00±1.00	10.00±1.00	14.00±0.00	11.66±0.57	9.16±0.76	13.66±1.52	11.00±0.00				
	etanol	16.16±1.04	11.00±0.00	14.00±0.00	15.83±1.75	11.00±1.73	14.66±0.57	16.00±0.00	14.00±0.00	14.83±1.60	13.00±0.00				
	etil asetat	11.16±0.76	8.50±0.50	11.00±0.00	14.00±0.00	14.33±0.57	9.00±0.00	10.66±1.15	6.66±0.57	-	-				
SCF		25.75±1.89	26.25±2.21	25.00±4.61	26.25±0.50	30.50±2.64	25.00±2.30	27.00±3.46	28.00±3.55	-	-				
Nystatin		-	-	-	-	-	-	-	-	21.75±1.8	20.00±1.63				

Kalyoncu ve ark. [16]'nın yaptığı çalışmada *Pleurotus ostreatus*'un laboratuvar ortamında yetiştirilen misellerinden hazırlanan etanol ekstraktları *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, *C. albicans*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*

üzerine sırasıyla 24, 18, 16, 12, 12, 8 mm zon çapı oluşturularak etkili olmuştur. Bizim çalışmamızda aynı patojenlere karşı etanol ekstraktları *S. aureus*, *E. coli* ve *B. cereus* üzerinde daha düşük zon çapı oluştururken *C.*

albicans, *B. subtilis* ve *P. vulgaris* üzerinde daha büyük zon çapı oluşturmuştur (Tablo 2).

Agaricus campestris'in antimikrobiyal aktivitesini tespit etmeye yönelik Giri ve ark. [17] tarafından yapılan çalışmada, metanol ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* üzerinde etkili olmadığı, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* üzerinde ise antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir.

Bizim yaptığımızda çalışmada *A. campestris*'in hem Tokat hem de Yozgat'tan toplanan örneklerinden elde edilen ekstraktların *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* üzerinde farklı derecelerde zon çapı oluşturarak etkili olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada *Pleurotus ostreatus*'dan elde edilen metanol ekstraktların *Bacillus cereus* ve *Candida albicans* üzerinde etkili olmadığı, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde ise aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda *Pleurotus ostreatus*'dan elde edilen farklı ekstraktların *Bacillus cereus* üzerine 6.50 ± 0.50 - 11.50 ± 0.86 arasında zon çapı ile, *Candida albicans* üzerine ise 8.66 ± 0.57 - 13.00 ± 1.00 arasında zon çapı oluşturarak etkili olduğu görülmüştür. Bu iki çalışmada elde edilen sonuçların farklı olması kullanılan çözücülerin farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Jagdish ve ark. [18], *A. campestris* makromantarına yakın bir tür olan *Agaricus bisporus* üzerinde antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapmıştır. Sonuçta etanol ekstraktlarının test için kullandıkları Gram (-) bakteriler üzerine zayıf etkilerinin olduğu, ancak Gram (+) bakteriler üzerinde kuvvetli etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Makromantarın çiğ örneklerinin *S. aureus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* üzerinde sırasıyla 22 ± 4 , 12 ± 1 , 16 ± 0.2 mm zon çapı oluşturarak antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenirken, *E. coli* üzerinde yeterli zon çapı oluşturamamıştır. Ayrıca *C. albicans* üzerinde 14 ± 0.5 mm zon çapı oluşturarak antifungal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda *A. campestris* örneklerinin etanol ekstraktları *S. aureus* üzerine 12.50 ± 0.50 ve 12.66 ± 0.57 mm, *B. subtilis* üzerine 10.50 ± 0.86 ve 12.33 ± 1.52 mm, *P. aeruginosa* üzerine 11.33 ± 1.52 ve 12.83 ± 1.25 mm ve *E. coli* üzerine 10.66 ± 0.57 ve 12.16 ± 0.28 mm zon çapı oluşturmuştur. *C. albicans* üzerinde 9.66 ± 0.57 ve 12.00 ± 0.50 mm zon çapları oluşturarak Jagdish ve ark. [18]'nin sonuçlarına göre biraz daha düşük antifungal aktivite göstermiştir.

Yıldız ve ark. [19] tarafından yapılan çalışmada *Agaricus bisporus* ve *Pleurotus ostreatus*'un kültür ortamında yetiştirilmiş örneklerinin metanol ekstraktlarının bazı bakteri (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve mayalara (*Candida albicans*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Analizler sonucunda, bu mantar ekstraktlarının test

mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin olmadığı belirlenmiştir. Bizim analizlerimizde *Pleurotus ostreatus* örneklerinden elde edilen ekstraktların *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* patojenlerine karşı 6.83 ± 0.28 - 13.00 ± 1.00 arasında değişen zon çapları ile antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Canlı ve ark. [20] tarafından *Morchella esculenta*'nın antimikrobiyal aktivitesini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada etanol ekstraktlarının *B. subtilis*, *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *S. aureus* ve *P. vulgaris* üzerine 7.00 - 13.00 mm arasında zon çapı oluşturarak etkili olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızda etanol ekstraktlarının 9.50 ± 0.50 - 16.16 ± 1.04 mm arasında zon çapı oluşturduğu görülmüştür.

M. esculenta'nın 6 farklı patojene karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için yapılan bir çalışmada etil asetat ekstraktlarının *E. coli*, *B. subtilis*, *S. pyogenes* ve *C. albicans* üzerine etkili olmadığı, *P. aeruginosa* üzerinde 8 mm ve *S. aureus* üzerinde 10 mm zon çapı oluşturarak etki gösterdiği belirlenmiştir [21]. Bizim örneklerimizden elde ettiğimiz etil asetat ekstraktları *E. coli*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* üzerinde 6.66 ± 0.57 - 14.33 ± 0.57 arasında değişen zon çapları oluşturarak antimikrobiyal aktivite gösterirken, *C. albicans* üzerinde yeterli zon çapı oluşturamamıştır.

Sadi ve ark. [22] tarafından *Tricholoma terreum* üzerine yaptıkları çalışmada metanol ve su ekstraktları *E. coli*, *B. subtilis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı 6-8 mm arasında değişen zon çapı oluşturarak antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda *T. terreum*'dan elde ettiğimiz aseton, etanol ve etil asetat ekstraktları aynı patojenlere karşı 6.66 ± 0.28 - 14.66 ± 1.52 arasında değişen zon çapları oluşturmuştur.

Yapılan bu çalışmada Tokat ve Yozgat yöresinde yapılan arazi gezileri sırasında toplanan *P. ostreatus*, *T. terreum*, *A. campestris* ve *M. esculenta*'nın aseton, etanol ve etil asetat ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Çalışma sonucunda Tokat'tan toplanan örnekler ile Yozgat'tan toplanan örnekler arasında farklı zon çapları oluşmuştur. Yogabaanu ve ark. [4] göre su ve mineral miktarı, sıcaklık, pH ve tuzluluk gibi çevresel faktörler antimikrobiyal aktivite gösteren sekonder metabolitlerin üretimi üzerinde etkili olabilmektedir.

Teşekkür

Antimikrobiyal aktivite testlerimizde yardımlarını esirgemeyen Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı uzman personeline teşekkür ederiz. Ayrıca Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (GOU-BAP: 2012/048) bu çalışmayı finansal olarak desteklediği için teşekkür ederiz. Bu çalışmanın bir bölümü 1. Avrasya Mikoloji

Kongresi'nde (3-5 Temmuz 2017, Manisa) poster sunumu yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 2001; 105(12): 1422-1432.
- [2] Pekşen A. Mantarların İnsan Hayatı ve Sağlığındaki Yeri. *Bahçe Haber*, 2013; 2(1): 10-15.
- [3] Akyüz M, Onganer AN, Erecevit P, Kırbağ S. Antimicrobial Activity of some Edible Mushrooms in the Eastern and Southeast Anatolia Region of Turkey. *GUJS*. 2010; 23(2): 125-130.
- [4] Yogabaanu U., Weber JFF, Convey P., Rizman-Idid M., Alias SA. Antimicrobial properties and the influence of temperature on secondary metabolite production in cold environment soil fungi. *Polar Science*, 2017; 14: 60-67.
- [5] Phillips R. *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain & Europe*. Pan Books Ltd., 288 page, London; 1981.
- [6] Moser M. *Keys to Agarics and Boleti*. Gustav Fischer Verlag, 535 page, Stuttgart; 1983.
- [7] Bon M. *The Mushrooms and Toadstools of Britain and North-Western Europe*. Hodder-Stoughton, 352 page, London; 1987.
- [8] Breitenbach J, Kränzlin F. *Fungi of Switzerland. Vol: 3, Boletes and Agarics 1. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, 361 page, Switzerland; 1991.
- [9] Breitenbach J, Kränzlin F. *Fungi of Switzerland. Vol: 4, Agarics 2. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland; 1995.
- [10] Jordan M. *The Encyclopedia of Fungi of Britain and Europe*. Frances Lincoln, London; 1995.
- [11] Beug MW, Bessette AE, Bessette AR. *Ascomycete Fungi of North America*. Austin, TX, University of Texas Press, USA; 2014.
- [12] Kirk P. [Internet]. *Index Fungorum*; 2011 (erişim tarihi: 20 Aralık 2019). URL: <http://www.indexfungorum.org>
- [13] Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition, American Society Microbiology; 2003.
- [14] Vamanu E, Ene M, Vamanu A, Smarandache D, Sârbu I, Popa O, et al. Antioxidant and antibacterial properties of the extracts from *Pleurotus ostreatus* EVFB1 and EVFB4. *Romanian Biotechnological Letters*, 2011; 16: 40-46.
- [15] Singha K, Pati BR, Mondal KC, Mohapatra PKD. Study of nutritional and antibacterial potential of some wild edible mushrooms from Gurguripal Ecoforest, West Bengal, India. *IJBT*. 2017; 16: 222-227.
- [16] Kalyoncu F, Oskay M, Sağlam H, Erdoğan TF, Tamer AÜ. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Mycelia of 10 Wild Mushroom Species. *Journal of Medicinal Food*, 2010; 13(2): 415-419.
- [17] Giri S, Biswas G, Pradhan P, Mandal SC, Acharya K. Antimicrobial Activities of Basidiocarps of Wild Edible Mushrooms Of West Bengal, India. *Int. J. PharmTech Res.* 2012; 4(4): 1554-1560.
- [18] Jagadish LK, Krishnan VV, Shembhagaraman R, Kaviyaran V. Comparative study on the antioxidant, anticancer and antimicrobial property of *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach before and after boiling. *Afr. J. Biotechnol.* 2009; 8(4): 654-661.
- [19] Yıldız S, Yılmaz A, Can Z, Tabbouche SA, Kılıç AO, Sesli E. Some Bioactive Properties of Wild and Commercial Mushroom Species. *J Food Health Sci.* 2017; 3(4): 161-169.
- [20] Canlı K, Benek A, Şenturan M, Akata I, Altuner EM. In vitro Antimicrobial Activity of *Morchella esculenta* and *Trametes versicolor*. *Mantar Dergisi*, 2019; 10(özel sayı): 28-33.
- [21] Acay H. Yenilebilen Yabani Mantar *Morchella esculenta* (L.) Pers.'nın Besinsel Kalitesi ve Biyoaktif Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *Mantar Dergisi*, 2018; 9(2): 95-105.
- [22] Sadi G, Kaya A, Yalçın HA, Emsen B, Kocabaş A, Kartal Dİ, et al. Wild Edible Mushrooms from Turkey as Possible Anticancer Agents on HepG2 Cells Together with Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2016; 18(1): 83-95.



İstanbul'daki Tahıl Unlarında Aflatoksin, Deoksinivalenol ve Zearalanon Düzeyleri

Kadriye TÜRKEŞSİZ*¹, Kâmil BOSTAN²

¹ Haliç Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu Aşçılık Programı, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Aydın Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul, Türkiye

Kadriye TÜRKEŞSİZ ORCID No: 0000-0003-3028-2291

Kâmil BOSTAN ORCID No: 0000-0001-7583-0066

*Sorumlu yazar: kadriyeturkessiz@halic.edu.tr

(Alınış: 21.04.2020, Kabul: 05.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar

Kelimeler

Tahıl unu,

Küf,

Aflatoksin,

Deoksinivalenol,

Zearalanon,

LC-MS/MS

Öz: Bu çalışma bazı tahıl unlarında küf düzeyini ve bazı mikotoksinlerin [aflatoksin, deoksinivalenol ve zearalanon] varlığını araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2015 yılında İstanbul ilinde bulunan çeşitli fırın ve marketlerden 112 tane farklı un [25 tane tam buğday unu, 29 tane beyaz un, 30 tane çavdar unu ve 28 tane kepek] örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerde ilk olarak direk ekim ve seyreltme yöntemleri ile küf sayımı yapılmıştır. Devamında aflatoksin, deoksinivalenol ve zearalanon düzeyleri LC-MS/MS cihazı kullanılarak belirlenmiştir. İncelenen tahıl un örneklerinin tümü Türk Gıda Kodeksi [TGK] nin belirlediği maksimum sınır değerinin [10^4 kob g^{-1}] altında küf içerdiği saptanmıştır. Un örneklerinin 9'unda $0,17-5,95 \pm 0,002 \mu g kg^{-1}$ arasında aflatoksin, 41'inde $0,06-70,04 \pm 0,0032 \mu g kg^{-1}$ arasında deoksinivalenol [DON] ve 15'inde $0,04-3,04 \pm 0,0018 \mu g kg^{-1}$ arasında zearalanon [ZON] miktarı tespit edilmiştir. Örneklerin tümünde deoksinivalenol ve zearalanon düzeyi TGK' nin belirlediği kabul edilebilir sınırların altında bulunmuştur. Analiz edilen örneklerden sadece bir un örneğinde [çavdar] aflatoksin B1+B2+G1+G2 düzeyi [$5,95 \mu g kg^{-1}$] limit değerinin [$4 \mu g kg^{-1}$] üzerinde saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre İstanbul'da satışa sunulan unların küf içeriğinin kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu ve örneklerdeki mikotoksin düzeyi bir örnek dışında tüm örneklerde kabul edilebilir limitlerin altında olduğu sonucuna varılmıştır. Gıda zinciri boyunca küf ve mikotoksin kaynaklı kontaminasyonun engellenmesi hem gıda kalitesinin sağlanmasında hem de tüketicilerde oluşabilecek sağlık risklerinin önlenmesinde büyük önem taşımaktadır.

Aflatoxin, Deoxynivalenol and Zearalenone Levels in Grain Flour Samples in İstanbul

Keywords

Grain flour,

Mold,

Aflatoxin,

Deoxynivalenol,

Zearalanon,

LC-MS/MS

Abstract: This study was carried out to investigate the level of mold in some kinds of grain flour and the presence of some mycotoxins [aflatoxin, deoxynivalenol and zearalanon]. For this purpose, in 2015, 112 different types of flour [25 samples of whole wheat flour, 29 samples of white flour, 30 samples of rye flour and 28 samples of wholemeal] were collected from various bakeries and markets in İstanbul. In the collected samples, firstly, mold counting was done by direct sowing and dilution methods. Subsequently, aflatoxin, deoxynivalenol and zearalanone levels were determined using LC-MS/MS device. It has been determined that all of the grain flour samples analyzed contain mold below the maximum limit value [10^4 cfu g^{-1}] determined by the Turkish Food Codex. The amount of aflatoxin $0,17-5,95 \mu g kg^{-1}$ in 9 of flour samples, deoxynivalenol between $0,06-70,04 \mu g kg^{-1}$ in 41 of flour samples and zearalanone between $0,04-3,04 \mu g kg^{-1}$ in 15 of flour samples. In all of the samples, deoxynivalenol and zearalanone levels were found below the acceptable limits determined by TGK. In only one flour sample from the analyzed samples [rye] aflatoxin B1 + B2 + G1 + G2 level [$5,95 \mu g kg^{-1}$] was detected above the limit value [$4 \mu g kg^{-1}$]. According to the findings, it was concluded that the mold content of the flours offered for sale in İstanbul is within acceptable limits and the mycotoxin level in the samples is below the acceptable limits in all samples except one sample. Preventing mold and mycotoxin-induced contamination throughout the food chain is of great importance both in ensuring food quality and in preventing health risks that may occur in consumers

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, bazı filamentli mantarlar [küfler] tarafından üretilen toksik sekonder metabolitlerdir. Düşük moleküler ağırlıklı bileşikler olup [genellikle 1000 Dalton'dan az] doğal olarak oluşurlar. Besin zincirimizde bitkisel bazı besinlerin mikotoksinlerle kontamine olmasıyla ya da gıda üzerinde toksijenik küflerin gelişimiyle oluşmaktadır. Mikotoksinler mısır, tahıl, soya fasulyesi, sorgum, yer fıstığı gibi gıda ve yem bitkilerinde tarlada, olgunlaşma esnasında ve nakliye sırasında oluşabilmektedir. Mikotoksinle kontamine olmuş gıda veya yemin tüketilmesiyle insanlarda ve hayvanlarda akut veya kronik toksisiteye neden olabilir. Mikotoksinle kontamine olmuş gıda ve yemlerin doğrudan tüketiminden kaynaklanan olumsuz etkilere ilişkin kaygıların yanı sıra, potansiyel mikotoksin kalıntıları veya metabolitleri içeren et, süt ve yumurta gibi hayvansal kaynaklı gıda ürünlerinin tüketilmesiyle ilgili halk sağlığı endişesi de vardır [1].

Üç fungal cins, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* üyeleri, başlıca mikotoksin üreticileridir. Bugüne kadar 300'den fazla mikotoksin tanımlanmış, bunlardan 6'sı [aflatoksin, trikotesen, zearalanon, fumonisin, okratoksin ve patulin] gıdalarda yaygın olarak bulunurlar [1]. Mikotoksinler, gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından hem Türkiye'de hem de Dünya çapında ciddi sorunlara yol açmaktadır [2, 3].

Tahıllar ülkemizde binlerce yıldır yetiştirilmekte ve kırsal alanlarda yaşamın bir parçasıdır. Buğday, arpa, mısır, yulaf, çavdar, pirinç, darı, kılıksız buğday, kanarya otu ve karışık hububat Türkiye'de yetiştirilen temel tahıl çeşitleridir [4]. Ülkemizde tahıl ve tahıldan elde edilen ürünler insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Yetişkin bir Türk'ün günlük ortalama buğday ve öğütülmüş buğday ürünlerinin tüketimi çoğu Batı ülkesinden iki kat daha fazladır ve bu miktar günlük diyetin yaklaşık %50'sine karşılık gelmektedir [5]. Dünya'da kişi başına günlük ekmek tüketimi; İspanya'da 112 g, İngiltere'de 72 g, İsviçre'de 130 g, İran'da 300 g ve Türkiye'de bu değer 195 g'dır [6]. Tahıl taneleri hasat, taşıma, depolama ve işleme süreçlerinde sıklıkla mantarlar tarafından üretilen mikotoksin kontaminasyon riski taşımakta ve bu süreçlerde oluşan toksinlerin canlılarda alerjik ve toksijenik reaksiyonlara sebep olmaktadır [2,3,7,8]. Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda ülkemizde üretilen un ve unlu mamullerde küf kontaminasyonuna ve mikotoksin içeriğine dikkat çekilmiş, halk sağlığı açısından oluşturacağı riskleri vurgulanmıştır [4, 9,10,11].

Bu çalışma tam buğday unu, beyaz un, çavdar unu ve kepekte küf ve mikotoksin [aflatoksin, deoksinivalenol ve zearalanon] varlığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Örnekler 2015 yılının Ağustos, Eylül, Ekim, Kasım aylarında İstanbul ilindeki farklı fırın ve marketlerden 25 tam buğday unu, 29 beyaz un, 30 çavdar unu ve 28 kepek olmak üzere 112 farklı örnek tedarik edilmiştir. Birer kilogram temin edilen her örnek 7 gün içinde analize alınmış ve bu süreçte +4 °C' [Arçelik buzdolabı] de saklanmıştır.

2.1. Küf ve Maya Sayımı

Tahıl unu örneklerinden 10 g alınarak 90 ml steril peptonlu [ISO LAB 204] su içine aktarılmıştır. Homojenizasyon için stomocher' [Aes Chemunex] da 2 dakika kadar orta hızda tutulmuştur. Homojenizasyon işleminden sonra içlerinde 9'ar ml steril peptonlu su bulunan tüplere 1 ml örnek eklenerek seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Steril kabinde seyreltmelerden çift paralel olacak şekilde içinde YGC (Yeast Glucose Chloramphenicol) [Merck 1.16000.0500] bulunan petri kutularına tüplerdeki örnek dilüsyonlarından 1 ml inoküle edilmiştir. Ekim yapılan petriler 25°C'de 5 gün inkübasyona [Binder BD260] bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besi yerinde gelişen kolonilerin sayımı yapılmıştır [12].

2.2. Mikotoksin Analizleri

2.2.1. Numune hazırlama ve temizleme prosedürleri

Homojen edilmiş örnekten 25 gr tartılmıştır. Üzerine 50 ml ekstraksiyon [%80 metanol+ %20 asetik asit] eklenmiş ve 30 dakika karıştırılmıştır. 10 dakika santrifüj edilmiştir. Berrak sıvı 0,45 µm enjektör filtresinden geçirilmiştir. 1/1 oranında seyreltme sıvısı [%20 metanol + %2 asetik asit + %78 su] ile seyreltilmiştir. Ekstrakt LC-MS/MS sistemine 10 µl enjeksiyon edilmiştir [13].

2.2.2. Analiz

Un örneklerindeki mikotoksin [aflatoksin, deoksinivalenol, zearalanon] seviyeleri LC-MS/MS multi mikotoksin yöntemi ile belirlenmiştir. Analiz LC-MS/MS [Agilent 6460 QQQ] cihazında, Mobil Faz A [su, %0,1'lik formik asit, 2 mM amonyum format], Mobil Faz B [metanol, %0,1'lik formik asit, 2 mM amonyum format], Shim-pack XR-ODS II 3,0 mm I.D. x 75 mm kolon, nebulize edici basıncı 40 psi, kolon fırını 45 °C, kurutma sıcaklığı 400 °C, akış hızı 0,5 ml/dk. ve 10 dakika tarama süresi şartlarıyla gerçekleştirilmiştir. Validasyon parametreleri yöntem validasyonu için performans kriteri olarak kullanılmıştır [14]. Mikotoksin içermeyen numune [blank] kullanılarak tespit limiti [LOD], tayin limiti [LOQ] ve tekrarlanabilirlik [%RSD] değerleri Tablo 1'deki gibi belirlenmiştir.

Analizlerde yüksek saflıkta Sigma Aldrich marka toksin standartları [AFB1 1162-65-8], [AFB2 7220-81-7], [AFG1 1165-39-5], [AFG2 7241-98-7], [DON 51481-10-8], [ZON 17924-92-4], asetonitril [Sigma Aldrich

21004 75-05-8], metanol [Merck 1098229 67-56-1], amonyum format [Sigma Aldrich 516961 540-69-2], formik asit [Sigma Aldrich 695076 64-18-6], asetik asit [Sigma Aldrich 695092 64-19-7] kullanılmıştır. Öncelikle, farklı konsantrasyonlarda standart stok çözeltiler Tablo 2'deki gibi hazırlanmıştır. Standart çözeltilerde [asetonitril: su] [50: 50] oranında karışım kullanılarak gerekli seyreltmeler yapılmıştır. Bu stok çözeltiler daha sonra Tablo 3'deki matris etkili kalibrasyon standartlarını oluşturmak için kullanılmıştır.

Tablo 1. LC-MS / MS yönteminde tespit ve tayin limiti

Mikotoksin tipi	% [RSD]	LOD [ppb]	LOQ [ppb]
AFB1	6,52	0,10	0,33
AFB2	5,79	0,10	0,34
AFG1	4,24	0,09	0,31
AFG2	4,04	0,09	0,30
DON	3,19	2,22	7,40
ZON	9,06	0,51	1,70

LOD: Tespit limiti LOQ: Tayin limiti RSD: Tekrarlı birlik

Tablo 2. Stok konsantrasyonlar [ppb]

Stok no	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	DON	ZON
1	20	20	20	20	2000	200
2	10	10	10	10	1000	100
3	5	5	5	5	500	50
4	1	1	1	1	100	10

Tablo 3. Matris etkili standart konsantrasyonlar [ppb]

Mikotoksin tipi	Seviye 1	Seviye 2	Seviye 3	Seviye 4	Seviye 5	Seviye 6
AFB1	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1
AFB2	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1
AFG1	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1
AFG2	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1
DON	5	12,5	25	50	75	100
ZON	0,5	1,25	1,25	5	7,5	10

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada tam buğday ununda $1 \cdot 10^1 - 4,2 \cdot 10^3$ kob g^{-1} [ortalama $8,75 \cdot 10^2$ kob g^{-1}], beyaz unda $3 \cdot 10^1 - 8,7 \cdot 10^3$ kob g^{-1} [ortalama $1,03 \cdot 10^3$ kob g^{-1}], çavdar ununda $1,3 \cdot 10^2 - 4,3 \cdot 10^3$ kob g^{-1} [ortalama $1,11 \cdot 10^3$ kob g^{-1}], kepekte $5 \cdot 10^1 - 6 \cdot 10^3$ kob g^{-1} [ortalama $1,25 \cdot 10^3$ kob g^{-1}] aralığında küf saptanmıştır. Bütün örneklerdeki küf sayısı TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde [14] öngörülen maksimum sınır değerinin [10^4 kob g^{-1}] altında bulunmuştur. Aydın ve ark. [4]'nın 2009 yılında yaptıkları çalışmada 142 tane beyaz un örneklerinde $7,4 \cdot 10^1 - 1 \cdot 10^4$ kob g^{-1} arasında, Potus et al. [16] 1989 yılındaki yaptıkları çalışmada 263 tane beyaz un örneklerinde $1 \cdot 10^4 - 3 \cdot 10^4$ kob g^{-1} , Karagözlü ve ark. [17]'nin 2000 yılındaki araştırmasında 20 mısır ununda $2 \cdot 10 - 3 \cdot 10^5$ kob g^{-1} arasında küf sayısı tespit etmişlerdir. Çalışmamızda tespit edilen küf sayıları bildirilen çalışmalarda [4,16,17] değerlerden daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda incelediğimiz 112 farklı tahıl unu örneğinin 9 tanesinde aflatoksin varlığı Tablo 4'deki gibi belirlenmiştir [$0,17 - 5,95 \mu g kg^{-1}$]. Örneklerin sadece 1 [çavdar unu] tanesinde toplam aflatoksin [B1+B2+G1+G2] düzeyi $5,95 \mu g kg^{-1}$ ile TGK Bulaşanlar Yönetmeliği maksimum sınır değerinin [$4 \mu g kg^{-1}$] üzerinde bulunmuştur [18].

Tablo 4. Tahıl unlarında saptanan toplam aflatoksin [B1+B2+G1+G2] miktarları [$\mu g kg^{-1}$]

Örnek	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	Toplam aflatoksin değer aralığı [$\mu g kg^{-1}$]	TGK Maksimum Limiti [$\mu g kg^{-1}$]
Tam buğday unu	25	1	0,53	4
Beyaz un	29	-	-	
Çavdar unu	30	6	0,17-5,95	
Kepek	28	2	0,23-0,32	

Baydar ve ark. [19]'nın 2005 yılında Ankara'da yaptıkları çalışmada 25 öğütülmüş örnekte (tohum, bakliyat, tahıl unu ve nişasta) aflatoksin düzeyi HPLC yöntemi ile araştırılmıştır. Toplam aflatoksin miktarı $0,03 - 3,16 \mu g kg^{-1}$ arasında ölçülmüştür. Örneklerin 16'sında AFB1 $0,03 - 1,61 \mu g kg^{-1}$, 15'inde AFB2 $0,03 - 0,18 \mu g kg^{-1}$, 18'inde AFG1 $0,03 - 2,79 \mu g kg^{-1}$, 19'unda AFG2 $0,03 - 0,15 \mu g kg^{-1}$ seviyeleri arasında tespit etmişlerdir. Erzurum'da 2007 yılında yapılan başka bir çalışmada 50 buğday unu örneğinde toplam aflatoksin miktarı ELISA tekniği kullanılarak araştırılmıştır [20]. Örneklerin 37 tanesinde toplam aflatoksin miktarı ölçülebilir sınır değerinden [$1,75 \mu g kg^{-1}$] daha fazla bulunmuş ve örneklerin 9 'unda TGK'ne göre kabul edilebilir sınırların [$4 \mu g kg^{-1}$] üzerinde olduğu saptanmıştır. Aydın ve ark. [21]'nin 2008 yılında Trakya'nın yedi farklı üretim bölgesinden temin edilen 100 buğday unu örneğinin 45'inde seviyesi $0,05 - 14,01 \mu g kg^{-1}$ arasında değişen aflatoksin içerdiği saptanmıştır. Örneklerin 2 tanesindeki miktar maksimum tolere edilebilir sınırların [$4 \mu g kg^{-1}$] üzerinde bulunmuştur. İran'da yapılan bir çalışmada yaz ve kış mevsimlerinde temin edilen toplam 200 tane buğday unu örneği aflatoksin varlığı açısından incelenmiştir. Kış mevsiminde toplanan 100 tane buğday unu örneğinde ortalama $0,99 ng g^{-1}$, yaz mevsiminde toplanan 100 tane buğday unu örneğinde ortalama $0,82 ng g^{-1}$ toplam aflatoksin içerdiği belirlenmiştir. Un örneklerindeki toplam aflatoksin düzeyi İran Standartları Enstitüsü tarafından belirlenen sınırlardan daha düşük seviyelerde tespit edilmiştir [22]. Adı geçen çalışmalarda [19-21] bildirilen miktarlar çalışmamızda saptadığımız miktarlar daha yüksektir.

Çalışmamızda incelediğimiz tahıl unlarının 41 tanesinde $0,06 - 70,04 \mu g kg^{-1}$ seviyeleri arasında deoksinivalenol varlığı tespit edilmiştir [Tablo 5]. Örneklerin tamamında deoksinivalenol miktarı TGK Bulaşanlar

Yönetmeliği'nde bildirilen maksimum sınır değerini [750 $\mu\text{g kg}^{-1}$] altında bulunmuştur [18].

Tablo 5. Tahıl unlarında saptanan toplam deoksinivalenol miktarları [$\mu\text{g kg}^{-1}$]

Örnek	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	Deoksinivalenol değer aralığı [$\mu\text{g kg}^{-1}$]	TGK Maksimum Limiti [$\mu\text{g kg}^{-1}$]
Tam buğday unu	25	7	0,07-70,04	750
Beyaz un	29	18	0.06-19,6	
Çavdar unu	30	5	0,07-25,0	
Kepek	28	11	0,06-17,64	

Bakırcı [23]'nin 2014 yılında yaptığı çalışmada toplam 381 tane tahıl ve tahıl bazlı örneklerde HPLC yöntemi kullanılarak DON miktarlarını araştırmıştır. Bu çalışmada 144 örneğin 13 tanesinde 132,4-9589,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında DON ölçülmüştür. Valcheva et al. [24] tarafından 2003-2005 yılları arasında yapılan çalışmada 103 buğday örneğinde TLC [ince tabaka kromatografisi] yöntemi kullanılarak DON seviyeleri araştırılmıştır. 2003 yılında incelenen örneklerin 17'sinde DON 200-2000 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 2004 yılında incelenen örneklerin 21'inde 200-2500 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 2005 yılında incelenen örneklerin 7'sinde 200-1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ortalama 450-884 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında DON tespit etmişlerdir. Danimarka'da toplam 190 tane tahıl unlarında [buğday, durum buğdayı ve çavdar] DON düzeyi araştırılmıştır [25]. Araştırmada 1998-2000 yılları arası hasat döneminde 14 adet buğday ununda 20-527 [ortalama 191] $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında, 16 adet çavdar ununda 20-257 [ortalama 99] $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında DON miktarı belirlenmiştir. Çalışmanın 2000-2001 yılları arası hasat döneminde 133 örnekten fazlasında 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'a ulaşan düzeylerde DON belirlenmiştir. Örneklerde saptanan en yüksek DON düzeyi 2591 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'dir. Romanya'da 2014 yılı hasat mevsimi boyunca 31 tane bütün işlenmemiş buğday ve 35 tane buğday unu DON yönünden araştırılmıştır. Çalışmada 31 buğday örneğinin sekizinde 110-1787 $\mu\text{g kg}^{-1}$, buğday unu örneklerinin bir tanesinde 190 $\mu\text{g kg}^{-1}$ düzeylerinde DON tespit edilmiştir [26]. Ontario çiftliklerinden temin edilen 100 tane tahıl numunesinde DON varlığı araştırılmıştır. Araştırmada 25 tane kışlık buğdayın tümünde 1,044-982 ng g^{-1} , on beş tane baharlık buğdayın hepsinde 1,207-122 ng g^{-1} , mısır örneklerinin 14'ünde 1,041-989 ng g^{-1} , yulaf örneklerinin 6'sında 22-71 ng g^{-1} , yirmi tane arpa örneklerinin tümünde 1,071-973 ng g^{-1} miktarları arasında DON saptanmıştır [27]. Araştırmamızda elde edilen DON [0,06-70,04 $\mu\text{g kg}^{-1}$] miktarları Bakırcı [23], Valcheva [24], Rasmussen [25], Stanciu [26] ve Martos [27] tarafından bildirilenlerden daha düşük bulunmuştur.

Deoksinivalenol tahıllarda sıklıkla rastlanan B grubuna dahil bir trikotesendir. Bu mikotoksini üreten başlıca

türler *F. graminearum* ve *F. culmorum*'dur [28]. *F. graminearum*'un gelişme şartlarında optimum sıcaklık 24-26 °C ve minimum su aktivitesi 0,90'dır. Bu küf türü DON'un yanısıra nivalenol ve ZON'da oluşturabilmektedir [29]. Araştırmamızda DON kontaminasyonuna rastlanılan tahıl unu çeşitlerinde aynı zamanda ZON varlığı da tespit edilmiştir [Tablo 5 ve 6].

Çalışmamızda incelediğimiz tahıl unlarının 15 tanesinde 0,04-3,04 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen düzeylerde zearalanon içerdiği Tablo 6'daki gibi bulunmuştur. Saptanan değerlerler TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde öngörülen maksimum tolere edilebilir sınırlarının [75 $\mu\text{g kg}^{-1}$] çok altındadır [18].

Tablo 6. Tahıl unlarında saptanan toplam zearalanon miktarları [$\mu\text{g kg}^{-1}$]

Örnek	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	Zearalanon değer aralığı [$\mu\text{g kg}^{-1}$]	TGK maksimum limiti [$\mu\text{g kg}^{-1}$]
Tam buğday unu	25	3	0,04-2,43	75
Beyaz un	29	6	0,4-3,04	
Çavdar unu	30	5	0,11-0,48	
Kepek	28	1	2,77	

Bakırcı [23]'nin 2014 yılındaki araştırmasında HPLC yöntemi kullanılarak tahıl ve tahıl bazlı örneklerin 8 tanesinde ZON seviyesi 25-74 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında bulunmuştur. Valcheva et al. [24] 2003-2005 yılları arasında toplam 103 buğday örneğinde TLC [ince tabaka kromatografisi] yöntemi kullanılarak ZON seviyelerini araştırmışlardır. Araştırmada 2003 yılında 14 örnekte 300-4500 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 2004 yılında 24 örnekte 90-6000 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 2005 yılında 6 örnekte 100-1500 $\mu\text{g kg}^{-1}$ düzeyleri arasında ZON tespit edilmiştir. Ayalew et al. [30] 2006 yılındaki yaptıkları çalışmada buğday, arpa ve sorgum örneklerini analiz etmişlerdir. Araştırmada 32 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'a ulaşan ZON düzeyi sadece sorgum örneklerinde tespit edilmiştir. Katar'da 2004 yılında yapılan çalışmada 106 tane çeşitli gıdalarda [tahıl ve tahıl ürünleri, fındık ve fındık ürünleri, baharatlar, kuru meyveler ve içecekler] HPLC yöntemi kullanılarak ZON açısından incelenmiştir [31]. On üç numunenin 0.18-6.81 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında ZON içerdiği tespit edilmiştir. Lavkor [32] Adana'da 2015-2016 yılı hasat döneminde toplam 134 mısır örneğindeki ZON seviyesini araştırmıştır. Örneklerdeki ZON düzeyi 3,4-551,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında belirlenmiştir. Romanya'nın güneyindeki dört farklı bölgeden temin edilen 31 tane bütün işlenmemiş buğday ve 36 tane beyaz buğday unu dahil olmak üzere 66 tane örnekte ZON varlığı araştırılmıştır. Araştırmada 31 buğday örneğinin dördünde 327-1135 $\mu\text{g kg}^{-1}$, otuz beş buğday unu örneğinin 2'sinde 51-73 $\mu\text{g kg}^{-1}$ seviyelerinde ZON belirlenmiştir [26]. Martos et al. 2008-2009 yılları arasında toplanan 100 tane tahıl örneği [25 kışlık buğday, 15 baharlık buğday, 15 mısır, 10 yulaf, 20 arpa, 15 çavdar] ZON kontaminasyonu açısından incelenmiştir. Çalışmada 25 tane kışlık buğdayın sekizinde 24-145 ng g^{-1} , on beş baharlık buğdayın

10'unda 38-293 ng g⁻¹, mısır örneklerinin 9'unda 61-783 ng g⁻¹, çavdar örneklerinin 5 tanesinde 25-39 ng g⁻¹ miktarları arasında ZON tespit edilmiştir. Yulaf ve arpa örneklerinde ZON'a rastlanmamıştır [27]. İncelediğimiz tahıl unlarındaki zearalanon seviyeleri Bakırcı [23], Valcheva [24], Stanciu [26], Martos [27], Ayalew [30], Abdulkadar [31] ve Lavkor [32] tarafından bildirilenlerden daha düşük bulunmuştur.

4. SONUÇ

Çalışmamızda elde edilen bulgular İstanbul'da tüketime sunulan tahıl unlarının gıda güvenliği açısından risk teşkil etmediğine işaret etmektedir. Pozitif örneklerden biri hariç yasal limitlerin çok altında mikotoksin içeriyor olması halk sağlığı açısından sevindirici bir durumdur. Bir gıda ürününün kalitesi hem besleyici unsurları eksiksiz içermesi hem de mikrobiyolojik ve toksikolojik hijyeni ile yakından ilişkilidir. Gıda güvenliğinin sağlanmasında; iyi tarım uygulamaları [GAP], iyi üretim uygulamaları [GMP], iyi saklama uygulamaları [GSP], iyi dağıtım uygulamaları [GDP] ve HACCP gibi sistemlerin önleme faaliyetleri büyük rol oynamaktadır. Bu nedenle gıda güvenliğinin sağlanması için gerekli önlemlerin artırılarak sürdürülmesi aynı zamanda gıdalarda mikotoksin kalıntılarına yönelik araştırmaların sıklıkla yapılması toplum sağlığının korunmasına yönelik temel zorunluluk olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Alshannaq A, Yu JH. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International journal of environmental research and public health*. 2017;14(6), 632.
- [2] European Commission (EC). Green Paper from the Commission to the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions—Adapting to climate change in Europe—Options for EU action. 2007: 849, Brussels, Belgium. EC: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52007DC0354>
- [3] Magan N, Medina A, Aldred D. Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathol*. 2011; 1, 150–163.
- [4] Aydın A, Paulsen P, Smulders FJM. The physico-chemical and microbiological properties of wheat flour in Thrace. *Turk J Agric For*. 2009: 445-454.
- [5] Köksal O. National nutrition-health and food consumption survey of Turkey. Unicef Ankara. 1974.
- [6] Türkiye İstisraf Raporu 2018, TİR: https://tuketici.ticaret.gov.tr/data/5e6b33e913b876e4200a0101/Turkiye_Istisraf_Raporu_2018.pdf
- [7] Miraglia M, Brera C. Mycotoxins in grains and related products. In "Food Analysis by HPLC". 2nd ed. pp. Leo. M. L. Nollet ed. Marcel Dekker Inc. New York, U. S. A. 2000:493-522.
- [8] Abdallah M.F, Girgin G, Baydar T. Mycotoxin Detection in Maize, Commercial Feed, and Raw Dairy Milk Samples from Assiut City, Egypt. *Vet. Sci*. 2019: 6,57.
- [9] Camlibel L. IGEME research and Developmental Presidency. Agricultural Administration. Ankara.1995.
- [10] Nizam F, Oguz H. Occurrence of aflatoxins in layer feed and corn samples in Konya province. *Food Addit Contam*. 2003: 20, 654-658.
- [11] Giray B, Girgin G, Engin AB, Aydın S, Sahin G. Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey. *Food Control*. 2007;18: 23-29.
- [12] Midura TF, Bryant RG. Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis. *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods*. Washington (DC). American Public Health Association. 2001.
- [13] AOAC International Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edn. AOAC International, Gaithersburg, USA: 2005.
- [14] Magnusson B. The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics. 2014.
- [15] Türk Gıda Kodeksi, [TGK]: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/01/20100108-10.htm>.
- [16] Potus J, Suchet P. Les problemes de microbiologie en meunerie. *Industries des Cereales*. 1989: 58: 27-33.
- [17] Karagözlü N, Karapınar M. Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Okratoksin A ve Fungal Kontaminasyon. *Turk J Bio*. 2000: 24 561–572.
- [18] Türk Gıda Kodeksi, [TGK]: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm> <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/12/20121219-10.htm>
- [19] Baydar T, Engin A, Girgin G, Aydın S, Şahin G. Aflatoxin And Ochrotoxin In Various Types Of Commonly Consumed Retail Ground Samples In Ankara, Turkey. *Ann Agric Environ Med*. 2005: 12, 193–197.
- [20] Özturan K, Ünsal C, Karakaya Y, Atasever M, Ceylan Z, Atasever Aydemir M, Demirkaya A K. Erzurum'da Tüketime Sunulan Buğday Unlarının Toplam Aflatoxin, Aflatoxin.B1 ve Okratoksin A Yönünden İncelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*. 2007: 2 (4) 172-176.
- [21] Aydın A, Gunsen U, Demirel S. Total aflatoxin, aflatoxin B1 and ochratoxin A levels in Turkish wheat flour. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16(2). 2008.
- [22] Taheri N, Semnani S, Roshandel G, Namjoo M, Keshavarzian H, Chogan AG, Joshaghani H. Aflatoxin contamination in wheat flour samples

- from Golestan Province, Northeast of Iran. Iranian journal of public health. 2012: 41(9), 42.
- [23] Bakırcı G. Tahıl ve Tahıl Ürünlerinin Aflatoksin, Okratoksin A, Zearalenon, Fumonisin ve Deoksinivalenol Mikotoksinleri Yönünden İncelenmesi. Akademik Gıda. 2014: 12(2): 46-56.
- [24] Valcheva A, Valchev G. The Fusariotoxins Zearalenon and Deoxinivalenol as Natural Contaminators of Some Basic Cereal Components in the Production of Combined Feed. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 13. National Centre for Agrarian Sciences. 2007:99-104
- [25] Rasmussen PH, Ghorbani F, Berg T. Deoxynivalenol and other Fusarium toxins in wheat and rye flours on the Danish market. Food Additives & Contaminants.2003: 20(4), 396-404.
- [26] Stanciu O, Juan C, Miere D, Loghin F, Mañes J. Occurrence and co-occurrence of Fusarium mycotoxins in wheat grains and wheat flour from Romania. Food Control. 2017: 73, 147-155.
- [27] Martos P, Thompson W, Diaz G. Multiresidue mycotoxin analysis in wheat, barley, oats, rye and maize grain by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. World Mycotoxin Journal. 2010: 3(3), 205-223.
- [28] Bretz M, Beyer M, Cramer B, Knecht A, Humpf HU. Thermal degradation of the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol, J Agric Food Chem. 2006: 54(17), 6445-51.
- [29] Sweeney MJ, Dobson ADW. Mycotoxin production by Aspergillus, Fusarium and Penicillium species, Int J Food Microbiol. 1998: 43, 141-158.
- [30] Ayalew A, Fehrmann H, Lepschy J, Beck R, Abate D. Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. Mycopathologia. 2006: 162: 5763.
- [31] Abdulkadar AHW, Al-Ali AA, Al-Kildi AM, Al Jedah JH. Mycotoxins in food products available in Qatar. Food Control. 2004: 15: 543-548.
- [32] Lavkor I. Mısırdaki Koçan Çürüklüğüne Neden Olan Fungal Türler ve Mısırdaki Oluşan Mikotoksinler. The Journal Of Food. 2019: 44 (6): 1197-1209.



Difference Series Spaces and Matrix Transformations

G. Canan HAZAR GÜLEÇ^{1*}

¹ Department of Mathematics, Pamukkale University, Denizli, Turkey
G. Canan HAZAR GÜLEÇ ORCID No: 0000-0002-8825-5555

*Sorumlu yazar: gchazar@pau.edu.tr

(Alınış: 24.04.2020, Kabul: 08.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Keywords

Difference
sequence
spaces,
 α - β and γ -
duals,
Matrix
operators,
BK spaces

Abstract: This paper deals with new series space $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ introduced by using Cesàro means and difference operator. It is shown that this newly defined space $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ is a BK - space and has Schauder basis. Furthermore, the α , β , and γ -duals of $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ are computed and the characterizations of classes of matrix mappings from $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ to $X = \{\ell_\infty, c, c_0\}$ are also given.

Fark Seri Uzayları ve Matris Dönüşümleri

Anahtar Kelimeler

Fark dizi
uzayları,
 α - β ve γ -
dualleri,
Matris
operatörleri,
BK uzayları

Öz: Bu çalışmada, Cesàro ortalaması ve fark operatörü kullanılarak yeni bir $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ seri uzayı tanımlanmıştır. Bu yeni $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ uzayının bir BK - uzayı olduğu ve Schauder bazına sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ uzayının α , β , and γ - dualleri hesaplanmış ve $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ uzayından $X = \{\ell_\infty, c, c_0\}$ uzayına matris dönüşümleri karakterize edilmiştir.

1. INTRODUCTION

Recently, there has been a lot of interest in studies on the sequence spaces. In the literature, the basic concept is to generate new sequence spaces by means of the matrix domain of triangles (see, [1-17]). Besides this, several authors have studied difference sequence spaces using some newly defined infinite matrices. Also, they have studied some topological properties of them, and they have given the inclusion relations and some characterizations of related matrix transformations.

Throughout this study, ω , ℓ_∞ , c , and c_0 will be spaces of all, bounded, convergent and null sequences $x = (x_k)$ with complex terms, respectively. Also, by bs , cs and ℓ_p ($1 \leq p < \infty$), we denote the spaces of all bounded, convergent and p -absolutely convergent series, respectively. A Banach sequence space X is called a BK -space provided each of the maps $P_n : X \rightarrow \mathbb{C}$ defined by

$P_n(x) = x_n$ ($n \geq 0$) is continuous, where \mathbb{C} denotes the complex field.

Let U and V be two sequence spaces and $T = (t_{nk})$ be an infinite matrix of complex number. The matrix domain U_T is defined as

$$U_T = \{u \in \omega : Tu \in U\}. \quad (1)$$

Define the set $M(U, V)$ as

$$M(U, V) = \{a = (a_k) \in \omega : au = (a_k u_k) \in V \text{ for all } u = (u_k) \in U\}. \quad (2)$$

By the notation (2), the α , β , and γ -duals of the space U are defined by

$$U^\alpha = M(U, \ell_1), U^\beta = M(U, cs) \text{ and } U^\gamma = M(U, bs),$$

respectively.

Also, T defines a matrix mapping from U into V , if, for every $u = (u_k) \in U$, the sequence $Tu = (T_n(u))$, the T -transform of u , exists and is in V , where

$$T_n(u) = \sum_{k=0}^{\infty} t_{nk} u_k$$

for $n \geq 0$. (U, V) denotes the class of all such matrices that maps U into V . Thus, $T \in (U, V)$ if and only if $T_n = (t_{nk})_{k=0}^{\infty} \in U^\beta$ for each n and $Tu \in V$ for all $u \in U$.

Throughout this study, q shows the conjugate of p , i.e., $1/p + 1/q = 1$.

2. DIFFERENCE SERIES SPACES AND CESÀRO MEANS

The notion of difference sequence space has been introduced by Kızımaz [18] as follows.

$$X(\Delta) = \{x = (x_k) \in \omega : \Delta x \in X\}$$

for $X \in c_0, c, \ell_\infty$, where $\Delta x = (\Delta x_k) = (x_k - x_{k+1})$ for all $k \in \mathbb{N}$. After, Sarigöl [14] has defined the sequence space

$$X(\Delta_q) = \{x = (x_k) : \Delta_q x = (k^q(x_k - x_{k+1})) \in X, q < 1\}.$$

Later on, some new sequence spaces are defined by using the difference operator. For example, several authors including Çolak and Et [3], Orhan [19], Polat and Altay [20], Aydın and Başar [1], Başar and Altay [2], Demiriz and Çakan [4] and others have introduced and studied new sequence spaces by considering difference operators. In this section, following [1-4, 6-11, 14-16], we introduce the difference series space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ by using Cesàro means and difference operator and we prove that this space linearly isomorphic to space ℓ_p , and also construct its bases.

Let $\sum x_v$ be an infinite series with n th partial sums (s_n) , then the n th Cesàro mean (C, α) of order α ($\alpha > -1$) of the sequence (s_n) is defined by

$$u_n^\alpha = \frac{1}{E_n^\alpha} \sum_{v=0}^n E_{n-v}^{\alpha-1} s_v,$$

where $E_0^\alpha = 1$, $E_n^\alpha = \binom{\alpha+n}{n}$, $E_{-n}^\alpha = 0$, $n \geq 1$. The series $\sum x_n$ is said to be summable $|C, \alpha|_p$, $p \geq 1$, if (see [21])

$$\sum_{n=1}^{\infty} n^{p-1} |u_n^\alpha - u_{n-1}^\alpha|^p < \infty.$$

Using the method $|C, \alpha|_p$, the absolute Cesàro series space $|C_\alpha|_p$ has been defined by Sarigöl in [16]. For any

given sequence $x = (x_k) \in |C_\alpha|_p$, $H^{(p)}$ -transform of x is in ℓ_p , where the matrix $H^{(p)} = (h_{nk}^p)$ is defined by

$$h_{nk}^p = \begin{cases} E_{n-k}^{\alpha-1} k, & 1 \leq k \leq n \\ n^{1/p} E_n^\alpha, & k > n. \end{cases}$$

The main purpose of this study is to define further generalization of the absolute Cesàro series space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ using difference operator by

$$|C_\alpha|_p(\nabla) = \{x = (x_k) \in \omega : (\nabla x_k) \in |C_\alpha|_p\}$$

where $\nabla x_k = x_k - x_{k-1}$ for each $k \in \mathbb{N}$.

We first define the difference space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ by

$$|C_\alpha|_p(\nabla) = \left\{ x = (x_v) \in \omega : \sum_{n=1}^{\infty} \left| \frac{1}{n^{1/p} E_n^\alpha} \sum_{v=1}^n E_{n-v}^{\alpha-1} v \nabla x_v \right|^p < \infty \right\}.$$

Let us define the sequence $y = (y_n)$ as the $H^{(p)}(\nabla)$ transform of the sequence $x = (x_k)$, that is,

$$y_n = \frac{1}{n^{1/p} E_n^\alpha} \sum_{v=1}^n E_{n-v}^{\alpha-1} v \nabla x_v \quad (3)$$

for each $n \in \mathbb{N}$.

Then the difference space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ can be redefined by all sequences whose $H^{(p)}(\nabla)$ transform is in ℓ_p . This leads us together with (1) to the fact that

$$|C_\alpha|_p(\nabla) = (\ell_p)_{H^{(p)}(\nabla)}. \quad (4)$$

Now, we begin with following theorems which are required in the study.

Theorem 2.1. The difference space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ is a BK -space with the norm $\|x\|_{|C_\alpha|_p(\nabla)} = \|H^{(p)}(\nabla)(x)\|_{\ell_p}$, that is

$$\|x\|_{|C_\alpha|_p(\nabla)} = \left(\sum_{n=1}^{\infty} |H_n^{(p)}(\nabla)(x)|^p \right)^{1/p}.$$

Proof. It is known that ℓ_p is a BK space according to usual p -norm, (4) holds and the matrix $H^{(p)}(\nabla)$ is a triangle. So, we deduce from Theorem 4.3.2 in [22] that space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ is a BK -space with the given norm. This concludes the proof.

Theorem 2.2. The difference space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ is linearly isomorphic to the space ℓ_p for $p \geq 1$, that is, $|C_\alpha|_p(\nabla) \cong \ell_p$.

Proof. We should show the existence of a linear bijection between the spaces $|C_\alpha|_p(\nabla)$ and ℓ_p . Consider the transformation $H^{(p)}(\nabla) : |C_\alpha|_p(\nabla) \rightarrow \ell_p$ such that $H^{(p)}(\nabla)(x) = y$ defined by (3). The linearity of $H^{(p)}(\nabla)$ is clear and also it is seen that $x = \theta$ whenever $H^{(p)}(\nabla)(x) = \theta$. So, $H^{(p)}(\nabla)$ is injective. Furthermore, let $y \in \ell_p$ and we define a sequence $x = (x_n)$ by

$$x_n = \sum_{j=1}^n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} y_j \quad (5)$$

and so

$$\begin{aligned} \|x\|_{|C_\alpha|_p(\nabla)} &= \|H^{(p)}(\nabla)(x)\|_{\ell_p} = \left(\sum_{n=1}^{\infty} |H_n^{(p)}(\nabla)(x)|^p \right)^{\frac{1}{p}} \\ &= \left(\sum_{n=1}^{\infty} \left| \frac{1}{n^p E_n^\alpha} \sum_{v=1}^n E_{n-v}^{\alpha-1} v \nabla x_v \right|^p \right)^{\frac{1}{p}} \\ &= \|y\|_{\ell_p}. \end{aligned}$$

Therefore, $H^{(p)}(\nabla)$ is norm preserving and $x \in |C_\alpha|_p(\nabla)$ for all $y \in \ell_p$, namely, $H^{(p)}(\nabla)$ is surjective. Consequently, $H^{(p)}(\nabla)$ is a linear bijection, this leads the fact that $|C_\alpha|_p(\nabla) \cong \ell_p$, which concludes the proof.

Now, we determine the Schauder basis of the space $|C_\alpha|_p(\nabla)$.

A sequence (b_n) is called a Schauder basis (or briefly basis) of a normed sequence space X , if for each $x \in X$, there exists a unique sequence (α_n) of scalars such that

$$\lim_{m \rightarrow \infty} \left\| x - \sum_{k=0}^m \alpha_k b_k \right\|_X = 0$$

and in this case, we write $x = \sum_{k=0}^{\infty} \alpha_k b_k$.

Since $|C_\alpha|_p(\nabla) \cong \ell_p$, the Schauder basis of the new space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ is the inverse image of the basis $(e^{(k)})_{k=0}^{\infty}$ of the space ℓ_p , where $e^{(n)} (n = 0, 1, \dots)$ is the sequence with $e_n^{(n)} = 1, e_v^{(n)} = 0 (v \neq n)$ for all $n \geq 0$.

So, we have the following theorem without proof.

Theorem 2.3. Let $\alpha_k = (H^{(p)}(\nabla)(x))_k$, for all $k \in \mathbb{N}$. Define the sequence $\tau^{(j)} = (\tau_n^{(j)})$ as

$$\tau_n^{(j)} = \begin{cases} j^{1/p} \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r}, & 1 \leq j \leq n \\ 0, & j > n. \end{cases}$$

The sequence $\tau^{(j)}$ is a basis for the space $|C_\alpha|_p(\nabla)$ and any $x \in |C_\alpha|_p(\nabla)$ has a unique representation of the form

$$x = \sum_{j=1}^{\infty} \alpha_j \tau^{(j)}.$$

3. DUAL SPACES AND MATRIX TRANSFORMATIONS

We devote the last section of the paper to determine the α, β and γ -duals of spaces $|C_\alpha|_p(\nabla)$ and to give characterizations of certain matrix classes concerning the spaces $|C_\alpha|_p(\nabla)$.

We continue with quoting following lemmas due to Stieglitz and Tietz [23], Sarigöl [24] and Maddox [25] for our main results.

Lemma 3.1 [23]. The following statements hold:

a-) $T = (t_{nk}) \in (\ell_1, c)$ if and only if

$$\lim_{n \rightarrow \infty} t_{nk} \text{ exists for each } k \in \mathbb{N} \quad (6)$$

and

$$\sup_{n,k} |t_{nk}| < \infty. \quad (7)$$

b-) Let $1 < p < \infty$. Then, $T = (t_{nk}) \in (\ell_p, c)$ if and only if (6) holds, and

$$\sup_n \sum_{k=0}^{\infty} |t_{nk}|^q < \infty. \quad (8)$$

c-) $T = (t_{nk}) \in (\ell_1, \ell_\infty)$ if and only if (7) holds.

d-) Let $1 < p < \infty$. Then, $T = (t_{nk}) \in (\ell_p, \ell_\infty) \Leftrightarrow$ (8) holds.

e-) $T = (t_{nk}) \in (\ell_1, c_0) \Leftrightarrow$ (7) holds, and

$$\lim_{n \rightarrow \infty} t_{nk} = 0, \quad \text{for each } k \in \mathbb{N}. \quad (9)$$

f-) Let $1 < p < \infty$. Then, $T = (t_{nk}) \in (\ell_p, c_0) \Leftrightarrow$ (8) and (9) hold.

Lemma 3.2 [24]. Let $1 < p < \infty$. Then, $T = (t_{nk}) \in (\ell_p, \ell_1)$ if and only if

$$\sum_{k=0}^{\infty} \left(\sum_{n=0}^{\infty} |t_{nk}| \right)^q < \infty.$$

Lemma 3.3 [25]. Let $1 \leq p < \infty$. Then, $T = (t_{nk}) \in (\ell_1, \ell_p)$ if and only if

$$\sup_k \sum_{n=0}^{\infty} |t_{nk}|^p < \infty.$$

We now give details about duals of the spaces $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$.

Theorem 3.4. Let define the sets Λ_1 and Λ_2 as follows.

$$\Lambda_1 = \left\{ a = (a_n) \in \omega : \sum_{j=1}^{\infty} \left(\sum_{n=j}^{\infty} \left| \sum_{r=j}^n \frac{a_n E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} \right|^q \right) < \infty \right\}$$

and

$$\Lambda_2 = \left\{ a = (a_n) \in \omega : \sup_j \sum_{n=j}^{\infty} \left| \sum_{r=j}^n \frac{a_n E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j \right| < \infty \right\}.$$

Then, the α -dual of the spaces $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ for $p > 1$ and $|C_\alpha|_1(\mathbb{V})$ are given by

$$\{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\alpha = \Lambda_1$$

and

$$\{|C_\alpha|_1(\mathbb{V})\}^\alpha = \Lambda_2,$$

respectively.

Proof. Let $a = (a_n) \in \omega$ and $p > 1$. Then, we write

$$\begin{aligned} a_n x_n &= a_n \sum_{j=1}^n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} y_j \\ &= \sum_{j=1}^n \sum_{r=j}^n \frac{a_n E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} y_j = (F^p y)_n, \end{aligned}$$

where the matrix $F^p = (f_{nj}^p)$ is defined via the sequence $a = (a_n)$ by

$$f_{nj}^p = \begin{cases} \sum_{r=j}^n \frac{a_n E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p}, & 1 \leq j \leq n \\ 0, & j > n. \end{cases}$$

Therefore, we deduce that $ax = (a_n x_n) \in \ell_1$ whenever $x \in |C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ if and only if $F^p y \in \ell_1$ whenever $y \in \ell_p$, which implies that $a \in \{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\alpha$ if and only if $F^p \in (\ell_p, \ell_1)$ by Lemma 3.2, we obtain $a \in \{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\alpha$ if and only if

$$\sum_{j=1}^{\infty} \left(\sum_{n=j}^{\infty} \left| \sum_{r=j}^n \frac{a_n E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} \right|^q \right) < \infty.$$

Thus, we have $\{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\alpha = \Lambda_1$.

Using Lemma 3.3 instead of Lemma 3.2, the proof can be completed in a similar way.

Theorem 3.5. Let define the sets Λ_3 , Λ_4 and Λ_5 by

$$\Lambda_3 = \left\{ a = (a_n) \in \omega : \sup_m \sum_{j=1}^m \left| \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} \right|^q < \infty \right\}, \tag{10}$$

$$\Lambda_4 = \left\{ a = (a_n) \in \omega : \sup_{m,j} \left| \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j \right| < \infty \right\}, \tag{11}$$

and

$$\Lambda_5 = \left\{ a = (a_n) \in \omega : \lim_{m \rightarrow \infty} \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1}}{r} \text{ exists for each } j \in \mathbb{N} \right\},$$

respectively. Then, the β -dual of the spaces $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ for $p > 1$ and $|C_\alpha|_1(\mathbb{V})$ are given by

$$\{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\beta = \Lambda_3 \cap \Lambda_5$$

and

$$\{|C_\alpha|_1(\mathbb{V})\}^\beta = \Lambda_4 \cap \Lambda_5$$

respectively.

Proof. Let $a = (a_n) \in \omega$ and $p > 1$. Then, we consider the following equation.

$$\begin{aligned} \sum_{n=1}^m a_n x_n &= \sum_{n=1}^m a_n \sum_{j=1}^n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p} y_j \\ &= \sum_{j=1}^m j^{1/p} E_j^\alpha \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1}}{r} y_j \\ &= \sum_{j=1}^m b_{mj} y_j = (By)_m, \end{aligned}$$

where the matrix $B = (b_{mj})$ is defined via the sequence $a = (a_n)$ by

$$b_{mj} = \begin{cases} j^{1/p} E_j^\alpha \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1}}{r}, & 1 \leq j \leq m, \\ 0, & j > m. \end{cases}$$

Therefore, we deduce that $ax = (a_n x_n) \in cs$ whenever $x \in |C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ if and only if $By \in c$ whenever $y \in \ell_p$, which implies that $a \in \{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\beta$ if and only if $B \in (\ell_p, c)$, by part b-) of Lemma 3.1, we obtain that $a \in \{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\beta$ if and only if

$$\sup_m \sum_{j=1}^m \left| j^{1/p} E_j^\alpha \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1}}{r} \right|^q < \infty$$

and

$$\lim_{m \rightarrow \infty} \sum_{n=j}^m a_n \sum_{r=j}^n \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1}}{r} \text{ exists for each } j \in \mathbb{N}.$$

Thus, we have $\{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\beta = A_3 \cap A_5$.

Using part a-) instead of part b-) of Lemma 3.1, the proof can be completed in a similar way.

Since the proof is similar to the previous one, we give following theorem without proof.

Theorem 3.6. Let define the sets A_3 and A_4 by (10) and (11), respectively. The γ -dual of the spaces $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ for $p > 1$ and $|C_\alpha|_1(\mathbb{V})$ are given by

$$\{|C_\alpha|_p(\mathbb{V})\}^\gamma = A_3$$

and

$$\{|C_\alpha|_1(\mathbb{V})\}^\gamma = A_4,$$

respectively.

Now, we characterize matrix transformations from $|C_\alpha|_p(\mathbb{V})$ to ℓ_∞, c, c_0 . Let us define the matrix $B^{(p)} = (b_{nj}^{(p)})$ via an infinite matrix $T = (t_{nk})$ by

$$b_{nj}^{(p)} = \sum_{k=j}^\infty t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j^{1/p}. \quad (12)$$

We may begin with characterization of matrix classes $(|C_\alpha|_1(\mathbb{V}), X)$, where $X = \{\ell_\infty, c, c_0\}$.

Theorem 3.7. Consider the matrix $B^{(p)} = (b_{nk}^{(p)})$ as in (12) with $p = 1$. Then,

i-) $T = (t_{nk}) \in (|C_\alpha|_1(\mathbb{V}), \ell_\infty)$ if and only if

$$\lim_{m \rightarrow \infty} \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1}}{r} \text{ exists for all } n, j \in \mathbb{N}, \quad (13)$$

$$\sup_{m,j} \left| \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j \right| < \infty, \quad \text{for each } n \in \mathbb{N}, \quad (14)$$

$$\sup_{n,k} |b_{nk}^{(1)}| < \infty. \quad (15)$$

ii-) $T = (t_{nk}) \in (|C_\alpha|_1(\mathbb{V}), c)$ if and only if (13), (14), (15) hold and

$$\lim_{n \rightarrow \infty} b_{nk}^{(1)} \text{ exists for each } k \in \mathbb{N}.$$

iii-) $T = (t_{nk}) \in (|C_\alpha|_1(\mathbb{V}), c_0)$ if and only if (13), (14), (15) hold and

$$\lim_{n \rightarrow \infty} b_{nk}^{(1)} = 0, \text{ for each } k \in \mathbb{N}.$$

Proof. i-) $T = (t_{nk}) \in (|C_\alpha|_1(\mathbb{V}), \ell_\infty)$ iff Tx exists and is in ℓ_∞ for all $x \in |C_\alpha|_1(\mathbb{V})$. Then $(t_{nk})_{k=1}^\infty \in (|C_\alpha|_1(\mathbb{V}))^\beta$ and so the conditions (13) and (14) hold. Moreover, the series $\sum_k t_{nk} x_k$ converges uniformly in n and so

$$\lim_{n \rightarrow \infty} T_n(x) = \sum_{k=0}^\infty \lim_{n \rightarrow \infty} t_{nk} x_k. \quad (16)$$

To prove necessity and sufficiency of (15), let $x \in |C_\alpha|_1(\mathbb{V})$ be given and consider the operator $H^{(1)}(\mathbb{V}) : |C_\alpha|_1(\mathbb{V}) \rightarrow \ell_1$ defined by (3) with $p = 1$. Further, $x \in |C_\alpha|_1(\mathbb{V})$ iff $y = H^{(1)}(\mathbb{V})(x) \in \ell_1$, and also by (5), let us consider the equality

$$\begin{aligned} \sum_{k=1}^m t_{nk} x_k &= \sum_{k=1}^m t_{nk} \sum_{j=1}^k \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j y_j \\ &= \sum_{j=1}^m \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j y_j \\ &= \sum_{j=1}^m \psi_{mj}^{(n)} y_j, \end{aligned} \quad (17)$$

where

$$\psi_{mj}^{(n)} = \begin{cases} \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^\alpha}{r} j, & 1 \leq j \leq m \\ 0, & j > m. \end{cases}$$

Then, since $y \in \ell_1$ and $\Psi^{(n)} = (\psi_{mj}^{(n)}) \in (\ell_1, c)$, $\Psi^{(n)}$ exists and so the series $\sum_j \psi_{mj}^{(n)} y_j$ converges uniformly

for every $n \in \mathbb{N}$. Hence, by (16), this yields us under the assumption that as $m \rightarrow \infty$ in (17),

$$T_n(x) = \sum_{j=1}^{\infty} \left(\lim_{m \rightarrow \infty} \psi_{mj}^{(n)} \right) y_j = \sum_{j=1}^{\infty} b_{nj}^{(1)} y_j = B_n^{(1)}(y),$$

where $b_{nj}^{(1)} = \lim_{m \rightarrow \infty} \psi_{mj}^{(n)}$. This means that $Tx \in \ell_{\infty}$ whenever $x \in |C_{\alpha}|_1(\mathbb{V})$ if and only if $B^{(1)}y \in \ell_{\infty}$ whenever $y \in \ell_1$. Therefore, it follows from part c-) of Lemma 3.1 that $B^{(1)} \in (\ell_1, \ell_{\infty})$ iff (15) is satisfied, and this step completes the proof of the part i-).

Since ii-) and iii-) are proved easily as in i-) using parts a-), e-) instead of part c-) of Lemma 3.1, so we omit the detail.

Now, we prove the following result on matrix transformations.

Theorem 3.8. Let $1 < p < \infty$ and define the matrix $B^{(p)} = (b_{nk}^{(p)})$ as in (12). Then,

i-) $T = (t_{nk}) \in (|C_{\alpha}|_p(\mathbb{V}), \ell_{\infty})$ if and only if (13) holds, and

$$\sup_m \sum_{j=1}^m \left| \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^{\alpha}}{r} j^{1/p} \right|^q < \infty, \tag{18}$$

for all $n \geq 1$,

$$\sup_n \sum_{k=1}^{\infty} |b_{nk}^{(p)}|^q < \infty. \tag{19}$$

ii-) $T = (t_{nk}) \in (|C_{\alpha}|_p(\mathbb{V}), c)$ if and only if (13), (18), (19) hold, and

$$\lim_{n \rightarrow \infty} b_{nk}^{(p)} \text{ exists for each } k \in \mathbb{N}.$$

iii-) $T = (t_{nk}) \in (|C_{\alpha}|_p(\mathbb{V}), c_0)$ if and only if (13), (18), (19) hold, and

$$\lim_{n \rightarrow \infty} b_{nk}^{(p)} = 0, \text{ for each } k \in \mathbb{N}.$$

Proof. i-) Given $T = (t_{nk}) \in (|C_{\alpha}|_p(\mathbb{V}), \ell_{\infty})$. Then, equivalently, Tx exists and is in ℓ_{∞} for all $x \in |C_{\alpha}|_p(\mathbb{V})$. Then $(t_{nk})_{k=1}^{\infty} \in (|C_{\alpha}|_p(\mathbb{V}))^{\beta}$ and so the conditions (13) and (18) hold. Moreover, the series $\sum_k t_{nk} x_k$ converges uniformly in n and so (16) holds.

To prove necessity and sufficiency of (19), consider the operator $H^{(p)}(\mathbb{V}) : |C_{\alpha}|_p(\mathbb{V}) \rightarrow \ell_p$ defined by (3) and let $x \in |C_{\alpha}|_p(\mathbb{V})$ be given. Then $x \in |C_{\alpha}|_p(\mathbb{V})$ iff $y = H^{(p)}(\mathbb{V})(x) \in \ell_p$. Let us now consider the following equality derived by using the relation (5),

$$\begin{aligned} \sum_{k=1}^m t_{nk} x_k &= \sum_{k=1}^m t_{nk} \sum_{j=1}^k \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^{\alpha}}{r} j^{1/p} y_j \\ &= \sum_{j=1}^m \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^{\alpha}}{r} j^{1/p} y_j \\ &= \sum_{j=1}^m \tilde{\psi}_{mj}^{(n)} y_j, \end{aligned} \tag{20}$$

where

$$\tilde{\psi}_{mj}^{(n)} = \begin{cases} \sum_{k=j}^m t_{nk} \sum_{r=j}^k \frac{E_{r-j}^{-\alpha-1} E_j^{\alpha}}{r} j^{1/p}, & 1 \leq j \leq m \\ 0, & j > m. \end{cases}$$

Then, since $y \in \ell_p$ and $\tilde{\Psi}^{(n)} = (\tilde{\psi}_{mj}^{(n)}) \in (\ell_p, c)$, $\tilde{\Psi}^{(n)}$ exists and so the series $\sum_j \tilde{\psi}_{mj}^{(n)} y_j$ converges uniformly for every $n \in \mathbb{N}$. Therefore, if we pass to the limit in (20) as $m \rightarrow \infty$, then we obtain by (16) that

$$T_n(x) = \sum_{j=1}^{\infty} \left(\lim_{m \rightarrow \infty} \tilde{\psi}_{mj}^{(n)} \right) y_j = \sum_{j=1}^{\infty} b_{nj}^{(p)} y_j = B_n^{(p)}(y),$$

where $b_{nj}^{(p)} = \lim_{m \rightarrow \infty} \tilde{\psi}_{mj}^{(n)}$, $n \geq 1$. Thus, we deduce that $Tx \in \ell_{\infty}$ whenever $x \in |C_{\alpha}|_p(\mathbb{V})$ if and only if $B^{(p)}y \in \ell_{\infty}$ whenever $y \in \ell_p$, which implies that $B^{(p)} \in (\ell_p, \ell_{\infty})$, and so it follows from part d-) of Lemma 3.1 that $B^{(p)} \in (\ell_p, \ell_{\infty})$ iff (19) is satisfied. This completes the proof of part i-) of the theorem.

Since parts ii-) and iii-) can be proved by using the similar way of that used in the proof of part i-) taking account of parts b-) and f-) instead of part d-) of Lemma 3.1, respectively; we leave the details to the reader.

REFERENCES

- [1] Aydın C, Başar F. Some new difference sequence spaces. Appl. Math. Comput. 2004;157(3):677–693.
- [2] Başar F, Altay B. On the space of sequences of p-bounded variation and related matrix mappings. Ukrainian Math. J. 2003;55(1):136–147.
- [3] Çolak R, Et M. On some generalized difference sequence spaces and related matrix transformations. Hokkaido Math. J. 1997;26(3):483–492.
- [4] Demiriz S, Çakan C. Some topological and geometrical properties of a new difference sequence space. Abstract and Applied Analysis. 2011; Volume 2011, Article ID 213878: 14 pages, doi:10.1155/2011/213878.
- [5] Demiriz S, Çakan C. Some new paranormed sequence spaces and α -core of a sequence. Pure and Applied Mathematics Letters. 2016; Volume 2016: 32-45.
- [6] Duyar O, Demiriz S, Özdemir O. On some new generalized difference sequence spaces of nonabsolute type. Journal of Mathematics. 2014;

- Volume 2014, Article ID 876813: 13 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/876813>.
- [7] Ellidokuzoğlu HB, Demiriz S. Euler-Riesz Difference Sequence Spaces. *Turk. J. Math. Comput. Sci.* 2017;7:63-72.
- [8] Hazar GC, Sarıgöl MA. On absolute Nörlund spaces and matrix operators. *Acta Math. Sin. (Engl. Ser.)*. 2018;34(5):812-826.
- [9] Hazar Güleç GC, Sarıgöl MA. Compact and Matrix Operators on the Space $[C, -1]_k$. *J. Comput. Anal. Appl.* 2018;25(6):1014-1024.
- [10] Hazar Güleç GC. Compact Matrix Operators on Absolute Cesàro Spaces. *Numer. Func. Anal. Opt.* 2020;41(1):1-15.
- [11] Hazar Güleç GC. Characterization of some classes of compact and matrix operators on the sequence spaces of Cesàro means. *Operator and Matrices.* 2019;13(3):809-822.
- [12] İlkhan M, Kara EE. A new Banach space defined by Euler totient matrix operator. *Operator Matrices.* 2019;13(2):527-544.
- [13] İlkhan M, Demiriz S, Kara EE. A new paranormed sequence space defined by Euler totient matrix. *Karaelmas Sci. Eng. J.* 2019; 9(2).
- [14] Sarıgöl MA. On difference sequence spaces. *J. Karadeniz Tech. Univ. Fac. Arts Sci. Ser. Math.-Phys.* 1987;10:63-71.
- [15] Sarıgöl MA. Matrix transformations on fields of absolute weighted mean summability. *Studia Sci. Math. Hungar.* 2011;48(3):331-341.
- [16] Sarıgöl MA. Spaces of series summable by absolute Cesàro and matrix operators. *Comm. Math Appl.* 2016;7(1):11-22.
- [17] Sezer SA, Çanak İ. On a Tauberian theorem for the weighted mean method of summability. *Kuwait J. Sci.* 2015;42:1-9.
- [18] Kizmaz H. On certain sequence spaces. *Canad. Math. Bull.* 1981;24(2):169-176.
- [19] Orhan C. Matrix transformations on Cesàro difference sequence spaces. *Comm. Fac. Sci. Univ. Ankara Ser. A1* 1984;33(1):1-8.
- [20] Polat H, Altay B. On some new Euler difference sequence spaces. *Southeast Asian Bull. Math.* 2006;30:209-220.
- [21] Flett TM. On an extension of absolute summability and some theorems of Littlewood and Paley. *Proc. London Math. Soc.* 1957;7:113-141.
- [22] Wilansky A. *Summability Through Functional Analysis*. North-Holland Mathematical Studies. vol. 85. Elsevier Science Publisher; 1984.
- [23] Stieglitz M, Tietz H. Matrixtransformationen von folgenräumen eine ergebnisübersicht. *Math Z.* 1977;154:1-16.
- [24] Sarıgöl MA. Extension of Mazhar's theorem on summability factors. *Kuwait J. Sci.* 2015;42(3):28-35.
- [25] Maddox IJ. *Elements of functional analysis*. Cambridge University Press. London, New York; 1970.



Ekolojik Risk Değerlendirmede Ekotoksikogenomik Kavramı ve Verdiği Katkıları

Mehmet Kürşat ŞAHİN^{1*}

¹ Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye
 ORCID No: 0000-0003-0834-5081

*Sorumlu yazar: yasambilimci.kursat@gmail.com

(Alınış: 01.04.2020, Kabul: 04.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
 Ekotoksikogenomik,
 Toksikant,
 Biyobelirteç,
 Ekolojik risk
 değerlendirilmesi

Öz: Ekotoksikolojide, ekotoksikogenomik yaklaşımlar önemli bir alan olmaya başlamıştır. Toksikogenomikler önceleri kimyasalların insanlara risklerini belirlemek amacıyla kullanılmaya başlanırken, bu konudaki son gelişmeler bu yaklaşımın diğer organizmalara da uygulanabilirliğini göstermiştir. Ekotoksikogenomik, ekosistemi temsil eden ve bireyler üzerinde olduğu kadar ekosistem üzerinde de kimyasalların zararlı etkilerinin çalışıldığı, organizmalara yönelik toksikogenomik bir uygulamadır. Ekotoksikogenomik belli bir toksikanta biyolojik sistemlerin bir yanıtı olarak, öncül gen ekspresyon çalışmalarından gelişmiştir. Zaman içinde olgunlaşan çalışmalar çeşitli -omik alanlarının toksikoloji ve patolojide kullanılmasına olanak sağlamıştır. Bu bağlamda ekolojik risk değerlendirme çalışmalarında çeşitli enzimler ve proteinlerin (örneğin Glutasyon S-transferaz, metallothiyonin, kolinesterazlar, ısı – şok proteinleri) biyobelirteç olarak kullanılması canlılar üzerindeki potansiyel etkilerin gözlemlenmesine olanak sağlamıştır. Ayrıca birçok omurgalı ve omurgasız canlıda toksik etkiye maruz kalmanın belirlenmesinde mikroçip veya gen çiplerinden yararlanılarak hangi genlerin hücrede, dokuda, organda “up/down regüle” olarak ifade edilmesinin belirlenmesi de bu yaklaşımın bir diğer alanıdır. Etki ve genin sonuç özgü örüntüsü, protein ve metabolit profilleri, toksisitenin biyobelirteçleri olarak moleküler değişimleri tanımlamada kullanılmakta ve bu profiller, toksisite mekanizmalarını açıklamayı da sağlamaktadır. Bu yaklaşım ile çok sayıda farklı etkenin etki mekanizmalarını belirlenerek, belli tür ve populasyon alt gruplarında bu mekanizmaları yorumlayabilen genetik özellikleri gösterebilmektedir. Son yıllarda çevresel maruz kalma ile oluşan etkilerden korunma ya da etkinin azaltılmasında ekotoksikogenomik çalışmalar, multidisipliner kimliği ile hem erken uyarı değerlendirilmesini hem de maruz kalmanın ekosistemde oluşturduğu risklerin moleküler düzeyde etki mekanizmalarının açıklanmasını sağlayan bir bilim dalı olarak gelişmesini sürdürmektedir.

Ecotoxicogenomics Concept and Its Contributions to Ecological Risk Assessment

Keywords
 Ecotoxicogenomic,
 Toxicant,
 Biomarker,
 Ecological risk
 assessment

Abstract: Ecotoxicogenomic approach has become an important area in ecotoxicology. While toxicogenomics were previously used to determine the risks of chemicals to humans, recent developments in this area have demonstrated that this approach is also applicable for other organisms. Ecotoxicogenomic is a toxicogenomic practice that represents the ecosystem and where harmful effects of chemicals are studied on the ecosystem as well as on individuals. Ecotoxicogenomics evolved from precursor gene expression studies as a response to a particular toxicant biological systems. Studies that have matured over time have allowed various -omic fields to be used in toxicology and pathology. In this context, the use of various enzymes and proteins (eg Glutathione S-transferase, metallothionine, cholinesterases, heat-shock proteins) as biomarkers in ecological risk assessment studies has enabled the observation of potential effects on living things. In addition, determining which genes are expressed as “up / down regulated” in the cell, tissue and organ by using microarrays or gene chips in determining the exposure to toxic effects in many vertebrates and invertebrates. The result-specific pattern of effect and gene, protein and metabolite profiles are used to define molecular changes as biomarkers of toxicity, and these profiles also explain the mechanisms of

toxicity. With this approach, by determining the mechanisms of action of many different factors, it can show genetic features that can interpret these mechanisms in certain species and population subgroups. In recent years, ecotoxicogenomic studies continue to be developed as a branch of science that provides both early warning assessment and explanation of the mechanisms of action at the molecular level of the risks posed by the exposure in the ecosystem, with its multidisciplinary identity.

1. TANIM

Doğal ekosistemlerde çeşitli kimyasalların oluşturduğu etkileri inceleyerek, toksik maddelerin canlılar ve ekosistem üzerindeki etkilerini araştırıp, gösteren çalışmalar, bilindiği üzere “ekotoksikoloji”nin özünü oluşturur. Ancak son zamanlarda modern genomik teknolojilerinin de klasik ekotoksikolojiye eklenmesi ile yeni bir çalışma alanı olarak “ekotoksikogenomik” alanı kendinden söz ettirmeye başlamıştır. Konuyu bu bağlamda ele alırken, göz ardı edilmemesi gereken temel hususlardan biri de sadece genomik verinin değil, proteomik, transkriptomik ve metabolomik verinin de bu konu içerisinde ele alındığı gerçeğidir [1]. Bununla birlikte ekotoksikogenomik alanında çalışmaların temelini ortaya çıkaran bu –omik yaklaşımının kökeninde “kimyasalların insanlara yönelik tehditlerini” ortaya çıkarmak olsa da, genetik alanındaki son gelişmeler bu alandaki bilgi donanımını diğer organizmalara da uygulanabilir kılmıştır. Böylelikle, ekotoksikogenomik kavramı “ekosistemi, verdiği yanıtlar bakımından temsil eden ve bu nedenle bireyler üzerinde olduğu kadar ekosistem üzerinde kimyasalların zararlı etkilerinin çalışıldığı toksikogenomik bir uygulama” olarak ifade edilebilir. Bu kapsamda araştırmacılar, çevresel stres etkenlerine veya toksikantlara genomun nasıl yanıt verdiği üzerinde çalışmalar yürütmüşlerdir [2–16].

2. TARİHÇE

Ekotoksikogenomik, belli bir toksikanta ya da referans ajanlarla kaplı etkenlere biyolojik sistemlerin bir yanıtı uygulama alanı olarak gören ve model organizmalardaki öncül gen ekspresyon çalışmalarından köken alarak zaman içinde gelişen bir bilim dalıdır (Tablo 1.). Maruz kalma ve genin sonuç özgül örüntülerini anlamada, protein ve metabolit profilleri ile toksisitenin biyobelirteçleri olarak moleküler değişimleri tanımlamada kullanılmıştır [17,18]. Ayrıca bu profiller, toksisite mekanizmalarını [19,20] ve etki nedenlerini [21] kavramayı da sağlamıştır. Nuwaysir ve ark., [1999] “toksikogenomik” terimini, toksikolojik olarak ilgili genlerin yanıtlarını ölçerek ve seçici ve duyarlı biyobelirteçleri belirleyerek mikroçiplerin kullanımı ile tanımlamışlardır [2]. Bu anlamda mikroçip analizlerinden yararlanılarak çok sayıda kimyasal bileşik ile omik profillerinin ilişkisine yönelik bir çok çalışma bulunmaktadır [22]. Maruz kalmadan sonra izole edilen RNA örneklerinin sitokin, kemokin ve matriks metalloproteinaz transkript profillerinde beklenen yükselmeler gösterilmiştir. Benzer ekspresyon profilleri, yangısal hastalık sırasında meydana gelen biyolojik değişimleri taklit eden sistemlerde örneğin eklem

hastalığı olan hastadaki sinoviyosit ve kondrositlerinde de görülmüştür.

Sonraki çalışmalar, diğer dokuların gözlemini ve toksikantların geniş yayılımını genişleterek, spesifik toksisite-moleküler profillerin çağrışımına imkan sağlamıştır. Bu kapsamda genom teknolojisi ile yapılan ilk çalışmalardan biri Kurşun bileşiklerinin bir sınıfı, Alzheimer hastalığında da sakıncalı etki olarak bulunan Notch1 tarafından üretilen *Hes1* gen ürününün kırılma inhibisyonunun γ -sekretaz temelli bir keşif programı ile tanımlanmasıdır. Buradaki süreçte önemli olan nokta intestinal [barsak] epitel hücrelerindeki farklılıktır. Gen ekspresyon profillemesi ve protein analiz sonuçlarının kullanımı ile, adipsin’i bu toksisite için bir biyobelirteç olarak tanımlamışlardır [23]. Açıkçası genomik temelli yaklaşımlar son teknolojiyi gereksindiğinden ötürü maliyetlidirler. İşte bu sebeple, ekotoksikogenomik çalışmalara önemli bir katkı da özellikle ABD, Avrupa ülkeleri ve Uzakdoğu Asya’dan Japonya ve Güney Kore’deki büyük enstitüler ve konsorsiyumlar arası işbirliği ile gelmiştir [24,25]. Bu sayede düzenleyici kuruluşlardan öne çıkan bilim insanları endüstriyel laboratuvarlarda, akademilerde ve idari organizasyonlarda, bir araya gelerek, bu çalışma alanındaki önemli noktaları tanımlayıp, buna dönük hedefleri işaret etmektedirler.

2.1. Konsorsiyumlar

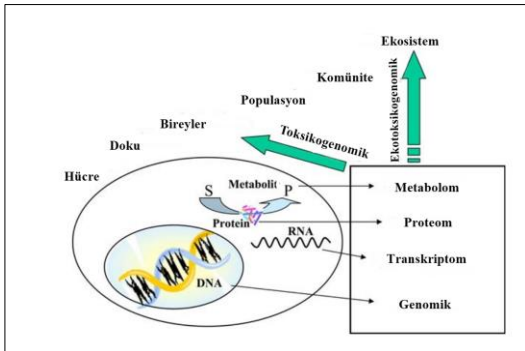
Ekotoksikogenomik ile karşılaşılan problemler bilim insanlarının tek başlarına çözümleyebileceğinden daha geniş olup, veri toplanması ve karşılaştırılması doğrultusunda yaygın çabalara gereksinen, süratli gelişen durumlardır. 3 ana işbirlikçi araştırma konsorsiyumu, prensip olarak ölçümleri standardize edip, toksikogenomik deneylerin yorumuna rehber olmaları amacıyla oluşturulmuştur. Bu gruplardaki bilim insanlarının yönlendirmesiyle, endüstri bazlı idari ve akademik laboratuvarlar, birer düzenleyici kurumlar olarak, ilgili spesifik konuyu işaret eden araştırma enstitüleri ile organize halde çalışmalarını sürdürmektedir. Bu konsorsiyumlara örnek olarak **ILSI (International Life Science Institute)**, **EMBL (European Bioinformatics Institute)**, **NIEHS (National Institute of Environmental Health Services)**, **Toxicogenomic Research Consortium –National Center for Toxicogenomics (NCT)**, **Consortium for Metabonomics Technology (COMET)**, **CREST Core Research for Evolutional Science and Technology** gibi merkezler verilebilir.

Tablo 1. Ekotoksikogenomik'in bilim tarihindeki yeri

Tarih	Kirillik kaynağı veya Bir bilim insanının atılımı	Etki veya yapılan çalışma
1850ler	Kömür yanma reaksiyon ürünleri	Güvelerde endüstriyel melanizm
1863	Endüstriyel atık sular	İlk toksikoloji testleri
1866	Mendel	Bezelyelerde kalıtım çalışmaları
1869	Miescher	DNA yı saflaştırın ilk kişi
1874	Kurşun atışları	Su kuşu ve sülün ölümleri
1887	Maden yataklarından Argon emisyonu	Geyiklerde ve tilkilerde ölümler
1920	Hans Winkler	Genom terimini ilk ortaya atan kişi
1927	Petrol sahalarında hidrojen sülfür	Memeli ve kuşlarda tükenmeler
1950ler	DDT ve organik klorlu pestisitler	Bahk yiyen kuşların yumurta zarında incelmeler
1953	Watson ve Crick	DNA'nın sarmal yapısının açıklanması
1960lar	Antikolin esteraz pestisidleri	Omurgalılarda tükenmeler
1970ler	Toksik atıkların karışımı	İnsan, sucul ve yaban hayatı sağlığına etkiler
1977	Fred Sagner ve arkadaşları	Genomik çalışmalarını başlatmaları
1980ler	Tarımsal tahribatlar ve radyoaktif maddeler	Şekil bozuklukları ve üremede harabiyet
1990lar	Kompleks kimyasal karışımları [PCBler]	Endokrin bozucular
1991	Pat Brown	DNA mikroarrayleri
2001-2003	Celera Genomics	İnsan Genomu Projesi
2000ler	Çevresel strese neden olan ajanlar	Ekotoksikogenomik'in toksikolojinin bir kolu olarak yer almaya başlaması
2010 sonrası	Toksik atıklar, kimyasallar	Ekotoksikogenomik ile uluslararası geçerli referans genlerin önerilmesi

3. -OMİK'LER

Bu başlık altında ifade edilen -omik kavramları toksisitenin hücreden ekosisteme giden hiyerarşik bir çerçeve içerisindeki fonksiyonları üzerinden değerlendirilmiştir (Şekil 1.).



Şekil 1. hücreden ekosisteme -omik kavramlarının hiyerarşik katılımı [26]

3.1. Türlerin Seçimi

Ekotoksikolojik etkilerin çalışılmasında proteomik ve genomik uygulamalar için uygun tür seçimi çok önemlidir. Bundandır ki yapılacak analizin niteliğini temsil edebilecek türler önem kazanır. Örneğin

denizkestanesi ve deniz üzümü gibi kimi durumlarda ayrıntılıca çalışılan bazı türler uygun adaylar olabilir. Çevresel toksikanta yanıtta karakteristik özellikleri sergileyen *Daphnia* sp. (Su piresigiller) cinsinin türleri gibi gruplar önemli bilgiler sağlamaktadır. Dolayısıyla konu ele alınırken şayet bu çalışma ekotoksikogenomik bir çalışma olacak ise, aşağıdaki kriterleri sağlayan türler ekotoksikogenomik analizler için iyi modeller olarak düşünülebilir: bu türler kolay örneklenebilir olması ve laboratuvarında yetiştirilebilir olması. Böyle bir yaklaşım kimyasala maruz kalma çalışmalarında yarar sağlayan bir kontrol noktası olarak düşünülebilir. Zira bu aşamadan sonra laboratuvara adaptif bir tür seçimi, ekotoksikogenomik temelli bir çalışma için kritik bir diğer noktayı işaret eder. Çünkü, şayet maruz kalma şartları kontrol edilemez ise gen ekspresyon değişiminin nedenini aydınlatmak zordur. Organizmalar kontamine olmuş ve olmamış alanlardan örneklenmiş olsa bile, bazen kirleticilerin etkilerinin genetik nedenli mi yoksa diğerlerinden mi olduğunun farkında olmak zordur. Genom büyüklüğü de türlerin seçiminde bir diğer kritik faktördür. Bununla birlikte, zaman ve genomik sekanslamanın maliyeti direk olarak genom büyüklüğüne bağlı olup; türler arasında değişkenlik gösterebilmektedir.

Aşağıdaki tabloda çeşitli türlerde kirleticilere ilişkin genomik yaklaşım çalışmaları sunulmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı türlerde kirleticilerle ilişkin genomik yaklaşım çalışmaları [26]

Kirletici	Organizma	Genomik yaklaşım	Referans
Pestisitler			
Klorpirifos, Diazinon	<i>Rattus norvegicus</i>	252 Gen bölgesi	Slotkin ve Seidler, 2007
Diazinon	<i>Homo sapiens</i>	600 Gen bölgesi	Mankame ve ark., 2006a,b
Diazinon	<i>Oryzias latipes</i>	Diferansiyel görünüm	Yoo ve ark., 2007
Fenarimol	<i>Daphnia magna</i>	SSH PZR, cDNA bölgesi	Soetaert ve ark., 2007
Mianserin	<i>Danio rerio</i>	Beyin spesifik	van der Ven ve ark., 2006b
Yeni ortaya çıkan kirleticiler			
2,4- 2,4-Dinitrotoluen	<i>Pimephelas promelas</i>	cDNA bölgesi	Wintz ve ark., 2006
Bis [Tri-N-bütülin] oksit [TBTO]	<i>Rattus norvegicus</i>	Oligo bölgesi	Baken ve ark., 2007
Bromobenzen	<i>Rattus norvegicus</i>	Afimetrik bölgeler	Tanaka ve ark., 2007a
Bromobenzen	<i>Rattus norvegicus</i>	Metabolomik/gen ekspresyonu	Hejine ve ark., 2005
Nanopartiküller [C50]	<i>Danio rerio</i>	Afimetrik bölgeler	Henry ve ark., 2007
Perklorat	<i>Xenopus laevis</i>	cDNA bölgesi, Q-PZR	Helbing ve ark., 2007
Perflorooktanoik asit [PFOA]	<i>Rattus norvegicus</i>	Afimetrik bölgeler	Guruge ve ark., 2006
PFOA	<i>Gobiocypris rarus</i>	cDNA bölgesi, Q-PZR	Wei ve ark., 2008
PFOA	<i>Mus musculus</i>	Afimetrik bölgeler	Rosen ve ark. 2007
PFOA, perflorooktan sulfonat asit [PFOS]	<i>Gallus gallus</i>	Genom bölgeleri	Yeung ve ark., 2007
RDX (siklotrimetilen-trinitramin)	<i>Populus nigra DN34</i>	RT-PZR	Tanaka ve ark., 2007b
RDX	<i>Rattus norvegicus</i>	Oligo bölgesi	Perkins ve ark., 2006
RDX	<i>Arabidopsis thaliana</i>	SAGE	Ekman ve ark., 2005
Tribütülin	<i>Salmo salar</i>	RT-PZR	Mortensen ve Arukwe, 2007
Tribütülin	<i>Tetrahymena thermophila</i>	SSH, Q-PZR	Feng ve ark., 2007
Trimetilbenzen	<i>Rattus norvegicus</i>	Mikroçip	McDougal ve Garrett, 2007
Vanadium	<i>Rattus norvegicus</i>	Afimetrik bölgeler	Willsky ve ark., 2006
Farmasötikler			
Klorpromazin	<i>Danio rerio</i>	Beyin spesifik bölgeler	van der Ven ve ark., 2005
13 farmasötüğün karışımı	<i>Danio rerio</i>	Oligo bölgesi	Pomati ve ark., 2007
Propikonazol	<i>Daphnia magna</i>	cDNA bölgesi	Soetaert ve ark., 2006

Kirletici	Organizma	Genomik yaklaşım	Referans
Kompleks karışımlar			
Atık sular	<i>Cyprinus carpio</i>	cDNA mikroçipi	Moens ve ark. 2007a
Herbisit karışımı	<i>Platichthys flesus</i>	SSH	Marchand ve ark. 2006
Çoklu kirleticiler	<i>Phalacrocorax carbo</i>	cDNA mikroçipi	Nakayama ve ark., 2006
Kağıt fabrikası atık suyu	<i>Micropterus salmoides</i>	Diferansiyel görünüm	Denslow ve ark., 2004
Endokrin bozucular			
17 α -etininöstradiol [EE2]	<i>Danio rerio</i>	Oligo bölgesi	Santos ve ark., 2007
EE2	<i>Danio rerio</i>	Oligo bölgesi, RT-PZR	Martyniuk ve ark., 2007
EE2	<i>Carassius auratus</i>	cDNA mikroçipi	Martyniuk ve ark., 2006
EE2	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	cDNA mikroçipi	Hook ve ark., 2006
17 β östradiol, 4-nonilfenol[4NP], 1,1-dikoro-2,2-bis [P-klorofenil] etilen [P,P'-DDE]	<i>Micropterus salmoides</i>	Makroçip	Larkin ve ark., 2003
17 β östradiol	<i>Pimephelas promelas</i>	Oligo bölgesi	Larkin ve ark., 2007
4NP (4-nonilfenol)	<i>Oryzias latipes</i>	Oligo bölgesi	Kim ve ark. 2006
4NP, bisfenol A, EE2	<i>Cyprinus carpio</i>	cDNA mikroçipi	Moens ve ark., 2007b
Fadrozol	<i>Pimephelas promelas</i>	Oligo bölgesi	Villeneuve ve ark., 2007
Flutamid, EE2	<i>Pimephelas promelas</i>	Q-PZR	Filby ve ark., 2007
Progesteron, Östrojen, Testosteron	<i>Caenorhabditis elegans</i>	cDNA mikroçipi	Custodia ve ark., 2001

3.1. Omurgalılarda ve Omurgasızlarda Endokrin Bozucuların Ekotoksikogenomik Uygulamaları

Poliklorlu bifeniller, dioksin ve çevresel endokrin – bozucu kimyasallar ve plastikleştirici, farmasötikler gibi pestisidler ve doğal hormonlar steroid ve retinoid reseptörlerle etkileşmektedir [27–30]. Bu kimyasallar genellikle östrojenik aktivite gösterir ve yapısal olarak fenol halkasına benzer oldukları söylenebilir [31]. Reseptör bazlı işlevsel deneyler, çeşitli çevresel kimyasalların kabul edilen biyolojik aktivitelerini tespit etmede kullanılmıştır [32]. Bu östrojenik kimyasallara nonilfenol [NP], bisfenol A [BPA], östron ve 17 β östradiol [E2] verilebilir [33]. Bu bağlamda ülkemizde de yaygın olarak kullanılan model organizma olan farelerde endokrin bozucuların etkileri üzerine yapılan çalışmalar şöyle sunulabilir:

Fare

cDNA mikroçip metodu, hormonlar tarafından düzenlenen gen ekspresyon analizlerinin genom çapında başarılı uygulamaları yıldan yıla gelişmekte olan bir

yaklaşımdır [34–37]. Östrojen yanıt genlerinin ekspresyonundaki örüntülerin bilgisi, farelerin üreme organları üzerinde östrojenik kimyasalların etki mekanizmasını anlamak için gereklidir. Seçilen çok sayıda gen için; ekspresyon, doz bağımlı tarzda indüklenir. Karakteristik gen ekspresyon örüntüleri her çevresel östrojenik kimyasal için gözlenmiş ve bu örüntülerin E2'den farklı oldukları, böylece endojenik östrojenle indüklenmeden farklı olan spesifik etki mekanizmaları olabileceği önerilmiştir [38].

Fizyolojik östrojenler E2, fizyolojik olmayan östrojenler [DES] ve dioksinlerin uterus gen ekspresyonu üzerinde farklı etkiler gösterdiği söylenmiştir [39]. Karaciğerde, bununla birlikte östrojenik yanıt genlerinden farklı olarak NP ve dioksinin farklı gen setlerini aktive ettiği bulunmuştur [38–40]. Böylece ancak küçük bir miktar genin direk olarak östrojen uygulanması ile uterofolik etkilerinin olduğu, uterustaki gen ekspresyonunda da E2'nin NP'ye benzer etkileri olduğu ancak hepatik doku için durumun böyle olmadığı rapor edilmiştir. Genel olarak bakıldığında, bu tip bir konuyu ekotoksikoproteomik prensiplere uygun yönlendirmek

gerekirse de tür seçimi için benimsenecek genomik yaklaşıma göre farklılık sağlayabilecek başlıca kriterler ise şunlardır: hedef tür yine kolay örneklenebilir olmalı fakat bu türün toksikanta yanıtı akut ölüm yada ölümcül dozda toksikanta maruz kalma değil, uzun dönemli protein ekspresyonunda meydana gelebilen bozukluklar

ele alınmalıdır. Bunun yanı sıra yaşamsal faaliyetlerde rol alması nedeniyle evrensel olarak düşünülen sitokrom P450, kolinesteraz, katalaz, glutatyon S-transferaz, vitellogen, ısı şok proteinleri gibi başlıca biyobelirteçleri kullanmak ekosistem analizleri için de fayda sağlayacaktır [41-43] (Tablo 3).

Tablo 3. Moleküller profiller kullanılarak, farklı canlılarda yapılan çalışmaların değerlendirilmesi [44]

Sınanan koşullar	Organizma	Tanımlanmış hücresel etkisi gözlenmiş işlem	Sınanan dokular	Organizasyon düzeyi	Referanslar
Östrojen / Ksenoöstrojen	Salmonidler	Östrojen sinyalizasyonu, transkripsiyon kontrolü, detoksifikasyon, stres	Beyin, karaciğer	Transkript	Gallagher ve ark.[2008], Meucci ve Arukwe[2006], Mortensen ve Arukwe[2007a,b], ve Veldhoen ve ark. [2010]
	Diğer teleostlar	Hücre proliferasyonu, protein sentezi, taşınım ve immüno yanıtlar	Karaciğer	Transkript	Williams ve ark.[2007]
	Yumuşakçalar	Detoksifikasyon, oksiradikalmetabolizma, hormon regülasyonu, enerji metabolizması,immüne işlevler	Sindirim bezi, hemolenf plazma	Protein	Amelina ve ark..[2007], Apraiz ve ark, [2006], Bjornstad ve ark,2006], Knigge ve ark, [2004], Mi ve ark, [2007], ve Zhou ve ark.,[2010]
	Deniz kestanesi	Hormon düzenlenmesi	Yumurta	Transkript	Roepke ve ark.,2006]
Üreme olgunluğu, göç—smoltifikasyon ya da yumurtlama	Salmonidler	Östrojen düzenlenmesi, transkripsiyon kontrolü, detoksifikasyon ve stres	Beyin ve karaciğer	Transkript	Gallagher ve ark.,[2008], Meucci ve Arukwe[2006], Mortensen ve Arukwe[2007a,b], ve Veldhoen ve ark.,[2010]
Farklı larval evreler ve erginlik	Diğer teleostlar	Çeşitli	Çeşitli	Transkript	Douglas ve ark.,[2007]
Eşey belirlenmesi	Yumuşakçalar	Aminoasit / protein metabolizması	Manto	Metabolit	Hines ve ark., [2007]
Poliaromatik kirleticiler	Salmonidler	Detoksifikasyon ve stres	Karaciğer	Transkript	Mortensen ve Arukwe[2007a], Rees ve Li [2004], Rees ve ark.,[2005], ve Rees ve ark.,[2003]
	Salmonidler	Enerji metabolizması	Karaciğer ve Kas	Metabolit	Lin ve ark. [2009], Tjeerdema [2008], van Scoy ve ark. [2010] ve Viant ve ark. [2006]
	Yüzgeçayaklılar	Hormon düzenlenmesi, enerji metabolizması, detoksifikasyon	Karaciğer, Kan, deri/yağ	Transkript, Protein ve Metabolit	Brouwer ve ark.[1998], Cole ve ark. [2009], Hammond ve ark. [2005], Hirakawa ve ark.2007], Kim ve ark. [2005], Mos ve ark. [2007], Tabuchi ve ark. [2006], Rolland [2000], ve Sormo ve ark. [2005]
	Yumuşakçalar	Detoksifikasyon, oksiradikal metabolizma, hormone regülasyonu, enerji metabolizması, immün işlevler	Sindirim bezi, hemolenf plazma	Protein	Amelina ve ark.[2007], Apraiz ve ark.[2006], Bjornstad ve ark.[2006], Knigge ve ark. [2004], Mi ve ark.[2007], ve Zhou ve ark [2010]
Ağır metaller, bakteriyel enfeksiyonlar, kişisel bakım ürünleri, pestisidler, poliaromatik kirleticier	Yumuşakçalar	Detoksifikasyon, immün işlevler, stress, transkripsiyon kontrolü	Çeşitli	Transkript	Cellura ve ark.,2007], Dondero ve ark., [2006b], Feldstein ve ark., [2006],Franzellitti ve Fabbri [2005], Franzellitti ve Fabbri[2006], La Porte [2005], Luckenbach ve Epel[2005], Song ve ark.,[2006], Tanguy ve ark.[2005], ve Venier ve ark., [2006]

Sınanan koşullar	Organizma	Tanımlanmış hücresel etkisi gözlenmiş işlem	Sınanan dokular	Organizasyon düzeyi	Referanslar
Yakalama / Kirletici baskısı	Salmonidler, Yüzgeç ayaklılar	İmmün yanıt, Stres, İmmün işlevleri, Enerji metabolizması	Karaciğer, Periferel lökositleri, Deri, kan	Protein, Transkript	Ellis ve ark.[2009], Mancia ve ark.[2007] ve Mancia ve ark. [2008]
Viral ya da bakteriyel enfeksiyon	Salmonidler	İmmün yanıt	Makrofaj, hematopoietik böbrek	Transkript	Rise ve ark. [2004a]
	Salmonidler	İmmün yanıt	Karaciğer	Protein	Booy ve ark. [2005] ve Provan ve ark. [2006]
	Diğer teleostlar	İmmün yanıt	Dalak	Transkript	Rise ve ark. [2008]
	Deniz kestanesi	RNAsplicing, protein işleme ve hedefleme, sekresyon, endozomal aktiviteler, hücre düzenlenmesi, hücre iskelet yapısı	Sölomositler	Transkript	Nair ve ark [2005]
	Deniz kestanesi	İmmün yanıt	Sölomositler	Protein	Dhelly ve ark [2011]
	Karides	Antimikrobiyal faaliyetler, oksidatif stres	Hepatopankreas	Transkript	Robalino ve ark. [2007]
	Karides	İmmün yanıt, oksidatif stres, Deri değiştirme proteinleri, stres	Hepatopankreas	Protein	Chai ve ark [2010]
Bakteriyel enfeksiyon, besin sınırlama ve sıcaklık stresi	Yumuşakçalar	Osmoregülasyon, aminoasit/protein/nükleotit metabolizması, karbonhidrat ve enerji metabolizması	Yaklaşıcı kas, sindirim bezi	Metabolit	Rosenblum ve ark [2005]
Populasyon adaptasyonu	Diğer teleostlar	Hücre yönlendirme ve enerji metabolizması	Beyin	Protein	Gonzales ve ark. [2010]
	Diğer teleostlar	Protein metabolizması	Karaciğer	Protein	Gonzales ve ark. [2010]
	Diğer teleostlar	Demir/Hem biyosentezi, osmoregülasyon	Karaciğer	Transkript	Larsen ve ark. [2007]
Hipoksi, soğuk ve sıcak stresi	Diğer teleostlar	İmmün yanıt, enerji metabolizması, hücre büyümesi, hücre iskelet yapısı, protein metabolizması	Karaciğer	Transkript	Kassahn ve ark. [2007]
Hipoksi	Karides	Oksidatif stres, stress, mitokondrial işlevler, yağ taşınımı, protein sentezi, enerji metabolizması	Hepatopankreas ve hemosit	Transkript	Brown-Peterson ve ark[2008] ve de laVega ve ark. [2007a,b]
Osmotik stres	Karides	Protein metabolizması, Hücre iskelet yapısı, enerji metabolizması, immun işlevler	Hemositler	Transkript	de la Vega ve ark. [2007a,b]
Isı stresi	Karides	Protein metabolizması, Hücre iskelet yapısı, enerji metabolizması, immune işlevler	Hemositler	Transkript	de la Vega ve ark. [2007a,b]
Metaller/ Ağır metaller	Diğer teleostlar	Detoksifikasyon, enerji metabolizması, protein demeti, mitokondriyal solunum,	Karaciğer	Transkript	Shedder ve ark. [2006]
	Diğer teleostlar	Enerji metabolizması, sinyal geçişi, stres	Beyin	Protein	Keyvanshokoh ve ark. [2009]
	Deniz kestanesi	Detoksifikasyon	Embriyo	Transkript	Cserjesi ve ark.[1997] ve Scudiero ve ark.[1997]

Sınanan koşullar	Organizma	Tanımlanmış hücresel etkisi gözlenmiş işlem	Sınanan dokular	Organizasyon düzeyi	Referanslar
Pestisitler	Diğer teleostlar	Oksidatif stres	Karaciğer	Protein	Chen ve Huang[2011]
	Deniz kestanesi	Proteoliz, transkripsiyon	Embriyo	Transkript	Marc ve ark [2005]
	Yumuşakçalar	Aminoasit / protein metabolizması, azot metabolizması	Manto, yaklaşırtıcı kas	Metabolit	Hines ve ark. [2010]
Kirlilik düzeyleri	Diğer teleostlar	Hormon düzenlenmesi, detoksifikasyon	Karaciğer	Transkript	Baker ve ark [2009]
	Yumuşakçalar	Stres, kolaylaştırılmış membran transportu	Yaklaşırtıcı kas, gonad ve hepatopankreas	Transkript	Veldhoen ve ark [2011] ve Veldhoen ve ark [2009]
	Yumuşakçalar	Detoksifikasyon, protein metabolizması, enerji metabolizması, stres	Sindirim bezi	Protein	Amelina ve ark [2007], Knigge ve ark [2004] ve Mi ve ark [2005]

* smoltifikasyon: juvenil salmonidlerin tuzlu su ile başa çıkabilmesi için geçirdiği fizyolojik değişimlerin süreci

Bu –omik profilleri üzerine çevresel etkenlerin yansması, çoklu değişken veri analizleri ile beraber hücresel düzeyde gözlenen bir etkinin domino etkisi biçiminde tüm ekosistemi de tehdit edebileceği söylenilmektedir. Örneğin Birleşmiş Milletlerin yayınladığı bir çevre raporunda Nijerya'daki Nijer deltası başta hidrokarbonların degradasyonu olmak üzere metan gazı ve karbon IV oksit gibi yağ türevlerinin oluşturduğu kirlilik ile karşı karşıyadır [44]. Söz konusu alanda brnzen ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) değerleri de Dünya Sağlık Örgütü'nün öngördüğü üst sınırlardan sırasıyla 1800 ve 500 kat daha yüksektir [44]. Burada sitagenomik bazı yürütülen bir çalışmada Udofia ve ark, (2018) özellikle petrol bazı hidrokarbon biyodegradasyon enzim yetkinlikleri olan mikroorganizmalar kullanılarak (örneğin *Pseudomonas stutzeri* ve *Acidovorax sp.*), kirlilik seviyesinin azaltılmasında başarı sağlanmıştır [44].

4. AMAÇ ve ARAÇLAR

Ekotoksikogenomiğin, 3 temel hedefi vardır:

- Çevresel maruz kalma ve organizmadaki etken duyarlılığı arasındaki ilişkileri anlama,
- Etkenin ve toksik maddelere maruz kalmanın faydalı biyobelirteçlerini tanımlama ve
- Toksitenin moleküler mekanizmalarını aydınlatma.

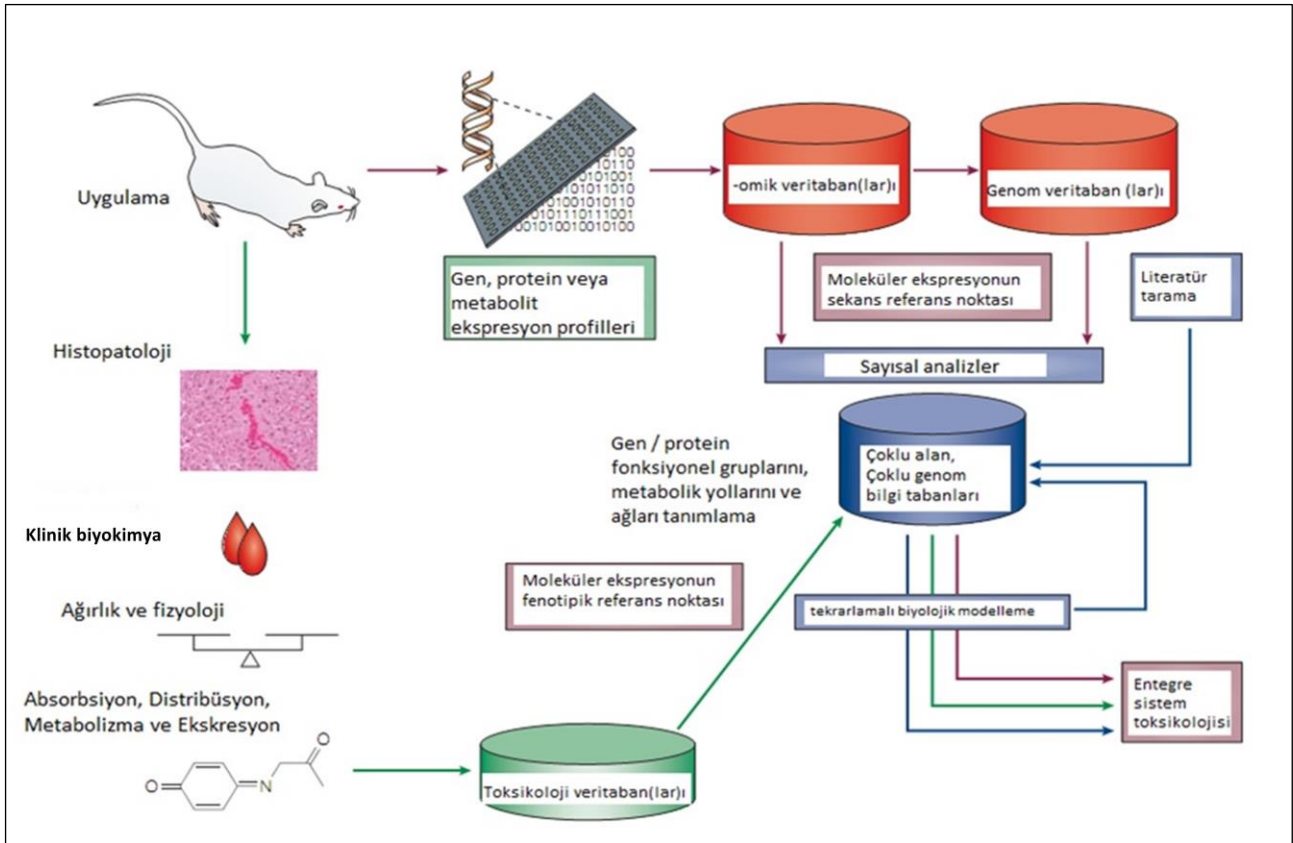
4.1. Örnek Bir Modelleme

Tipik bir toksikogenomik deneyinde, her biyolojik örnek için kayda değer farklılıkta ifade edilen genlerin listeleri oluşturulur. Alternatif olarak ise, genleri ve ilginin gen profilini tanımlamak için profil – analiz metotları doz ilişkili ya da süreç çalışmaları olarak uygulanabilir. Sonra, literatür taramaları, karşılaştırma analizleri ve moleküler ekspresyon veri setlerinin tekrarlamalı biyolojik modelleri üzerinden sistematik olarak çıkarılan ve toplanılan ilgili bilginin yardımıyla; bu değişimlerden (ya da biyobelirteçler) gelen benzer kliniksel ya da

görülen yan etkileriyle, ilgili biyolojik sistemlerin adaptif yanıtlarını ayırtmak mümkün olur. Geçen on yılda, ekotoksikogenomik yaklaşımı; gen ekspresyon profillerinin konseptini, toksikant sınıflarının, etken alt tiplerinin veya diğer biyolojik son noktalarının [end-point] bir “imzası” olarak onaylamıştır [45]. Bu imzalar, toksikant etkilerinin tahmin edici biyobelirteçlerinin analitik araştırmalarında etkili olarak yönlendirdiği gibi, aynı zamanda toksik ve adaptif yanıtlar arasındaki bağlantılı moleküler mekanizmalarda dinamik ayrışmanın anlaşılmasına da katkı sağlamıştır.

Toksikogenomik çalışmayı ve gen ekspresyon verilerinin üretildiği toplamı içeren bir deneysel çalışma çok büyüktür. Hatta inceleme yapmak, her bir doz – zaman grubunda, her bir hayvan başına bir doku için 18 – 45 mikroçip (eğer replikantlar kullanılacak ise daha fazla) ve çip başına 20000 ya da daha fazla transkriptin ilgili ölçümlerine gereksinir. Ayrıca, hayvan başına tipik uygulama ilgili veriler (vücut ağırlığı, organ –ağırlık ölçümleri, klinik kimyasal ölçümler, çeşitli dokular için mikroskopik histopatolojik bulgular gibi) de hesaba katılmalıdır. Bu verilerin dikkatli toplanması, yönetimi ve entegrasyonu, deney protokolünün içeriğinde olup, toksikolojik sonuçlar için yorumlanması için zorunludur.

Böylece, dozla, zamanla ve önemli toksikolojik ve/veya histopatolojik fenotip(ler) yönünden olan bütün veriler kaydedilmelidir. Bu tip deneysel verilerin derlenmesi, sayısal modelleme ve toksikoinformatikle beraber, toksikant ilgili etkenleri yeniden anlamının sağlanmasıyla önem arz edecektir. Aşağıdaki çerçevede toksikogenomiğin, geleneksel toksikolojik ve histopatolojik bulgularının son noktalarından hesaplanıp, -omiklerce derlenen bir entegrasyon şeması görülmektedir (Şekil 2). Bu entegrasyon, toksikolojik sonuçlar ve moleküler genetik arasındaki ilişkiyi sinerjistik biçimde anlamamızı sağlayan bir potansiyel sahiptir.



Şekil 2. Sistem toksikoloji çalışma çerçevesi [46]

4.2. Verilerin Entegrasyonu

Ekotoksikogenomikte anahtar hedef, farklı çalışmalardan ve analitik platformlardan gelen verileri daha zengin ve biyolojik olarak bir hücrenin, organın veya organizmanın toksikolojik yanıtını daha belirginleşmiş kavrama zemininde birleştirmektir. Örneğin, bir amaç protein fonksiyonları ile gen ekspresyonu arasında veya belli metabolit edici enzimler ile serumda veya küçük metabolit gruplarının organizmanın idrarındaki ekskresyon arasındaki etkileşimi tanımlayabilir.

Farklı alanlardan gelen proteomik, transkriptomik veya metabonomik gibi verilerin entegrasyonu rapor edilmiştir. Bu deneylerde, doku örnekleri aynı birey hayvanlardan ya da farklı teknolojiler kullanarak paralelde benzer olarak uygulanan hayvanların analizinden elde edilmiştir. Bununla birlikte, farklı çalışmalardan gelen veriler sadece farklı açılardan yanıtlayıcı transkriptlerin son listesinden ya da elde edilen protein profillerinden elde edilirler [47]. Global proteomik veya metabonomik çalışmalarından elde edilen iki boyutlu jelden spot yoğunluğu veya nükleer manyetik rezonans ile (NMR) metabonomiklerin iz verileri gibi tecrübeler; bize küme yada temel bileşenler analizlerinin, transkripsiyon analizlerine çok benzer şekilde moleküler ekspresyonun evrensel işaretlerden elde edilebileceğini anlatır [48]. Eğer biyolojik örnekler, benzer ekspresyon karakteristiği gösteren, kendilerine has kümelerine ayrılırlarsa, sonraki çabalar bu örneklerde eksprese olan yeni protein ya da metabolitlerin farkına varabilir [11]. Sonraki aşamalar potansiyel biyobelirteçler ya da toksikolojik yanıtın

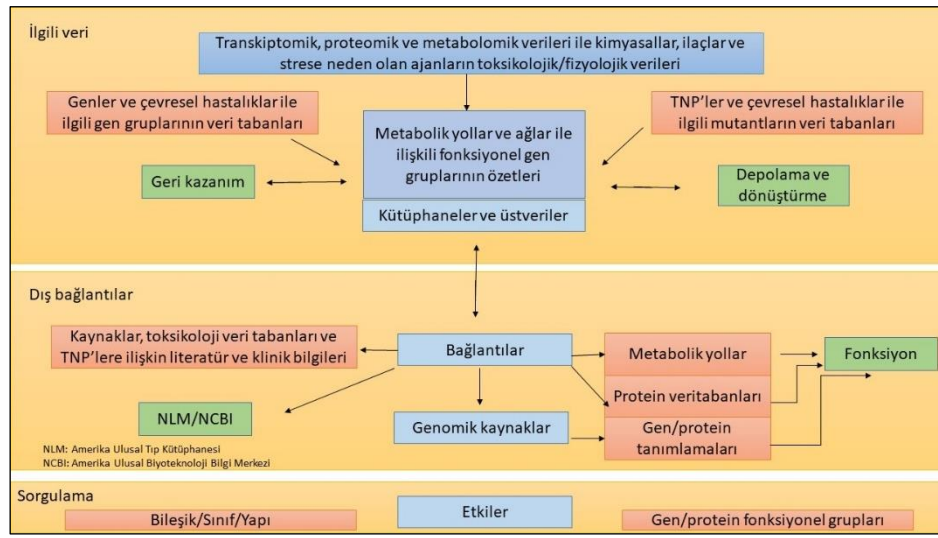
temelini oluşturmada araç olarak bu protein ya da metabolitleri değerlendirmeye yönelir. Gen karşılaştırmaları, kamu veri tabanındaki protein ve metabolik veriler biyolojik sistemlerin fonksiyonlarının ve çevresel etkenlere yanıtların nasıl olduğu hususunda teşvik edici evrensel anlayış için değerli olacaktır [49–53].

Bu yazılım havuzları geliştiğinde; deneyler, farklı deney dizaynları kullanarak ancak benzer toksisite son noktası veya toksikantın benzer sınıfından bir parametreyi hedefleyerek tamamen başka kaynaklardan birikecektir. Bu durumlarda, veri tarama meydana gelmeden önce, ilgili çalışmalardan gelen veri tabanlarının entegrasyonu önemlidir. Biriken veri setlerinin değerini maksimize etmek için, yazılım havuzları farklı teknolojik alanlardan gelen verilerin entegrasyonu sağlanmalıdır [41]. Zira her bir gruptaki (domain) veri tiplerinin standart bir temsili, etkili ve tutarlı depolama, erişim, analiz, karşılaştırma ve veri değişimi için ön koşuldur. Gelişim sürecinde uluslararası standartları düzenleyen gruplar MGED (Microarray Gene Expression Data Society) veya RSBI'dir (Reporting Structure for Biological Investigations). Bundan sonra ise, düzenleme kuruluşlarının üyeleri, sanayiden, akademik ve idari laboravuarlardan gelen biliminsanlarıyla beraber çalışarak, ILSI (International Life Science Institute) Genomik Komitesi ve Clinical Data Interchange Standards Consortium'da değişim, analiz ve transkriptomik verinin yorumlanması gibi durumlar için standart geliştirilmeye çalışır.

Bu durumu temellendirerek, toksikogenomik kavramının genişletilmesine yönelik, bunu PBPK (Fizyoloji Bazlı

Farmakokinetik) ve PD (Farmakodinamik) modellemeleri gibi rekabet edici yaklaşımlarla birleştiren bir öneri söz konusudur [54]. PBBDK modellemeleri, test ajanı dozunun kantitatif tahminlerini ya da hedef dokuda mevcut olan metabolitleri sağlamada kullanılabilir. Dolayısıyla, uygulama sonrası herhangi bir zamanda moleküler ekspresyon profillerini göz önüne almak başlangıç dozu, maruz kalma zamanına bağlı ya da toksikant indüklenmiş fenotipi referans almada düşünülebilir. Gen, protein ve metabolit ekspresyonu arasındaki ilişkiler, hem ajanın uygulanan dozunun fonksiyonu olarak hem de birbiri ardına gelen çeşitli doku kompartımanlarında meydana gelen kinetik ve dinamik doz – cevap doz – yanıt davranışları olarak

tanımlanabilir. Bu modeller, transkriptom, proteom ve metabolomun bizzat kendileri dinamik sistemler olduklarından, değerlendirmede hesaba katılmalıdır. Bu nedenle bu –omik profilleri, gün içinde bir zaman ya da besin gibi önemli çevresel etkenlere tabi olurlar. Ayrıca, NIEHS Environmental Genome Project, genlerdeki çevresel maruz kalma, detoksifikasyon ve onarımda önemli TNPLeri (Tek Nükleotid Polimorfizmi) tanımlama amacındadır. Toksikogenomik bilgiyi bu şekilde TNPLer gibi dikkate değer noktalarla getirilebilecek analizler, organizmaların verdikleri yanıtlarda bize resmi daha büyük bir çerçevede bakmamıza olanak sağlayabilir (Şekil 3).



Şekil 3. Biyolojik Sistemler bilgi tabanında Kimyasal Etkilerin [CEBS] gelişimi için Konsept Çerçeve [46]

4.2.1. Ekotoksikogenomik Yaklaşım

Ekspresyon profillemeye gibi genomik analizler bir organizmanın çevresel etkenler ile olan reaksiyonunu inceler. İlk olarak, organizma, vücuduna giren ve vücut içerisinde dağılan kimyasala maruz kalır. Spesifik hüresel hasarlarla sonuçlanan, bir şekilde kendine has kimyasal özelliklerinde kirlenmiş hücreler ve hüresel komponentler ile etkileşime girer. Yanıt olarak; organizma kirlenmeye, genin ekspresyon değişimini, protein seviyelerini veya metabolik konsantrasyonları içeren çoklu seviyelerde reaksiyon gösterir [55]. Bu değişimler, örneğin organizmayı önemli stres kaynaklarından korumada yardım ya da bunun yan etkilerini azaltmak gibi biçimlerde olabilir. Genler, kirlenmenin etki mekanizmasına bağlı ve spesifik olarak değiştirilen belirli setlerden (ya da protein veya metabolitlerin) oluşur [55]. Yanıtın önemsenen örtütüsü, spesifik bir etki mekanizmasını ve kirlenmeyi bir parmak izi gibi temsil edebilir.

Ekotoksikologlar için DNA mikroçipleri, uygun genomik araçlardan biridir. Gen ekspresyon mikroçipleri, her substrat üzerinde genellikle DNA parçalarının en yakın haliyle düzenlenmiş analizlerinden oluşur (örneğin 100 mikron). Her parça genellikle spesifik bir gen için bir araştırmayı temsil eden farklı bir DNA molekülünden oluşur. Mikroçipler, araştırmacının tek bir RNA örnekli tahlili üzerinde tüm genin

ekspresyonunu temsil ederek sorgulamasını sağlar. cDNA mikroçipleri, bireysel klonlanmış cDNAların PZR amplifikasyonundan gelen DNAları içerir. Sonuç olarak, probun uzunluğu oldukça çeşitli olabilir. Fragmentler üzerindeki yüksek yoğunlukta DNA noktalarını yazmada robot yazıcılar kullanılır. DNA mikroçiplerinin yakın zamandaki bir tipi, spesifik transkriptler için 50 – 70 birimlik oligonükleotid problemlerinden oluşur. cDNA çiplerine zıt olarak da her transkript için sekans bilgisi gereklidir. Bu oligonükleotitler cam parça üzerinde direk olarak sentezlenebildiği gibi önceden imal edilerek, farklı polimerler üzerinde de işaretlenebilir [56]. Afimetrik çipler ise birkaç kısa oligolarda belli bir gen için prob olarak kullanılan başka bir yaklaşımı temsil eder.

4.3. Verilerin Entegrasyonu

Ekotoksikogenomik, kirlenmeye ilişkin bilinmeyen toksisiteyi, sürekliliği, çevresel akıbeti, taşınımı ve kompleks karışımlardaki varlığı gibi zorluklarda yardımcı olabilir. Ekotoksikogenomik etki mekanizmaları [MOA=Mode of Action] bilgilendirmede ve çevrede kimyasala maruz kalmayı tahmin etme çalışmaları için iki potansiyel uygulama üzerinden gitmek yararlı olacaktır. Bunlardan birisi NOTEL [Transkripsiyonel Etki Gözetlenmeyen Seviye] ve bir diğeri genomik bazlı TIE dir [Toksosite Tanımlama Değerlendirmesi]. Bu ve benzeri çalışmaların

yürütülmesi ileride bu tip çalışmaları daha önemli su kalitesi, çevre sağlığı gibi hususlarda gözlem parametreleri olarak düşünülmesini kuvvetle sağlayacaktır.

4.3.1. Transkripsiyonal etki gözlenmeyen seviye [NOTEL]

NOTEL kavramı, bir kimyasalın gen ekspresyonunda kayda değer değişim ile sonuçlanmayan dozu olarak tanımlanabilir [57]. Lobenhofer ve ark., önce bu konsepti bir MCF – 7 hücresi [bir östrojen yanıt kanser hücresi hattı] çalışmasında önermiş, burada iki düşük doz, bir fizyolojik doz ve bir de sitotoksik doz içeren dört farklı konsantrasyona maruz kalmayı çalışmışlardır. Bu çalışmada, 2000 aday genin hiçbirinde kayda değer değişim ile eksprese olmayan iki düşük dozu vurgulamışlar ve bunların etkene transkripsiyonal yanıt için bir dönüm noktası konsantrasyonu olarak NOTEL terimini önermişlerdir. Buradaki önemli husus, herhangi bir hücresel taşıma bozukluğu gen ekspresyonunda kayda değer bazı değişimlere neden olmalıdır; böylece NOTEL değeri olarak gerçek transkripsiyonal etki gözlenmeyen seviye hesaplanabilir. Bazı araştırmacılar, NOTEL'in kontaminasyon izleme ve hatta düzenleme standartlarını kurmada kullanılabileceğini önermişlerdir [58].

Gen ekspresyon değişimleri her zaman toksisiteyi belirtmeyebilir, bazen de dengeleyici (telafi edici) yanıtları temsil edebilir. Çevresel izlemede NOTEL'in potansiyel rolü kimi çalışmalarda gösterilmiştir. Poynton ve ark., düşük seviyede metal konsantrasyonlarında, *D.magna*'da çok az da olsa genlerin farklı eksprese olabildiklerini göstermiştir [59]. Daha sonra terk edilmiş iki bakır madeninden örneklerinin gen ekspresyon paternleri karşılaştırılmış ve bakır yatakların kaynağa yakın yerlerinden gelen gen ekspresyon örüntüleri, çok düşük konsantrasyonları ile de çok az da olsa farklı biçimde eksprese olan genler ile sonuçlandığı gösterilmiştir: Atlantik yıllıkbalığının (*Fundulus heteroclitus*) hedef tür olduğu New Bedford limanındaki (ABD) iyileştirmenin etkinliğinin izlenmesinde mikroçiplerden yararlanılan çalışmada Crawford ve ark. (2019), lipid homeostasisindeki Poliklorinli Bifenil (PCB) ve gen ekspresyonunun ilişkili olduğunu göstermişlerdir[60]. Yine yavru Atlantik yıllıkbalıklarında hepatik yanıtların izlendiği çalışmada kirliliğe adapte olmada eksprese olan gen yanıtları da bu konu ile ilgili bir diğer örnektir. [61].

4.3.2. Karışımlara genomik toksisite tanımlama değerlendirme yaklaşımı

Doğal ortamlarında, organizmalar sadece bir bileşiğe değil, çevre ve bireysel organizmalar ile etkileşimde olabilen bir kirletici karışımı ile maruz kalabilirler. Önceden vurgulandığı gibi, çevrede kirletici karışımlarını içeren kompleksler atık sularda bazılar saptanmıştır. Toksikite Tanımlama Değerlendirmesi (TTD) süreci sıklıkla kompleks karışımlardaki tekil kimyasallar ile filtrelenen ilişkili toksisite testlerinden yararlanıp, nedensel ajanları belirler. Toksikite

tanımlamada güncel metotlar; bir ya da daha fazla toksikant sınıftan kaldırılan, her manipülasyonu takip eden atık su toksisite testleri ile eşleşmiş biyofizyolojik ayrışımı ve uygulamalarından yararlanır. Zaman ve maliyet olarak ilgili yürütülen bir TTD, bu bağlamda çok önemlidir [62] ve genelde bu yaklaşımlar, bazı atık sularda toksikantların genel sınıflarının ayrıştırılmasında başarılıdır; ancak tek bir kirletici değerlendirilmesi için böyle bir başarıdan bahsedilemez. Ek olarak, ayrışım yaklaşımları da karışımlarda sinerjistik yada antagonistik etkinin oluşturulabilmesi olarak değerlendirilmez. Çünkü bu metot, yıllarca toksikant tanımlamada dayanak noktası olmuştur ve bir TTD yaklaşımı daha duyarlı, spesifik, süreli ve uygun maliyetli özellikleri ile daha net bir ifadedir.

Genomik, TTD için alternatif ve tamamlayıcı bir araç olarak önerilebilir. Gen ekspresyon profilleri bir kompleks atık suda nedensel ajanı belirleyebilir. Ayrıca karışımlardaki kimyasalların, üreme ve hayatta kalmada beklenmeyen sonuçlar ile etkileşebildikleri bilinmektedir [63]. Kimyasal kombinasyonlarının farklı etkilere sahip olmaları, o organizma üzerindeki gen ekspresyon profillerini etkileyen tekli kimyasallara kıyasla daha uygundur. Akut yada kronik biyo-sınamalarda ek yanıtı neden olan kimyasallar, ayrıca bir başlarına da additif ekspresyon profiline de sahip olabilir. Standart biyo-sınamalarda sinerjistik veya antagonistik etki gösteren kimyasalların kendine özgü ekspresyon profilleri olabilir ama tekli kimyasalların ekspresyon profillerini temsil etmezler. Örneğin, krom ve benzopiren içeren karışımın karaciğer tümör hücre hattına [hepatoma hücreleri] etkileri üzerine olan bir çalışmada, Liu ve ark. (2010), karışımın gen ekspresyon profilinin, tekil kirleticilerin, profillerinden farklı olduklarını bulmuşlardır [64]. Bununla beraber, bilinen bu iki transkripsiyonal yolları benzeyen karsinojen hedef, zıt yönlendirmeler ile bir antagonistik yanıtı neden olur. Böylece, karışımda bazı indüklenmiş gen – benzopirenlerin baskılanması tahmin edilmiştir.

Krasnov ve ark. (2005), Cd, CCl₄ ve piren olarak 3 model toksikantı araştırmıştır [65]. Düşük maruz kalma seviyelerinde ekspresyon profillerinin additif olduklarını ve Cd ile piren ekspresyon profillerinin ayrılabilir olduklarını göstermişlerdir. Nanopartikül araştırmalarını içeren bir diğer çalışma ise nanopartikül ve yardımcı çözücüsünden dolayı etkiler arasında ayırım yapabileme imkanını göstermiştir. Fullerenlerin (C₆₀) ayrışması için partiküler hidrofobik özelliğe sahip, bir yardımcı çözücü ajan olan tetrahidrofurandan (THF) yararlanır. Araştırmacılar, bu iki formülasyona maruz kalmanın ekspresyon profilleri benzer örüntüye sahip olsa da fullerenlerin ayrışmasında THF'nin toksik etkisi görece düşük kaldığını göstermişlerdir [66]. THF - C₆₀ ve yalnız THF'ye maruz kalmanın ekspresyon profillerinin benzer olması görülen toksik etkileri ve sudaki THF degradasyon ürünlerinin bir sonucu olarak C₆₀ a katkıyı ifade eder. Ancak bu öncül sonuçlara rağmen, DNA mikroçipleri TTD yaklaşımına bütünüyle entegre olmadan önce; gen ekspresyonları üzerinde karışımların etkilerinin anlaşılmasını sağlayan çok sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

4.4. Etki Mekanizmasını Anlamada Genomik Yaklaşım

Ekspresyon profilleri ve diğer genom ifadelerin geniş yaklaşımları, toksikantların etki mekanizmasının [MOA] hipotezinin test edilebilirliğine yardımcı olmuş ve etki mekanizması bazlı olarak kimyasalların sınıflandırılmasına imkan sağlamıştır. Yeni gelişmekte olan kimyasallar için, MOA verileri kirlenici ile en çok ilgili analizlerin ne olacağını belirlemede önemlidirler. Ek olarak, mekanistik veriler yeni gelişmekte olan kimyasalların muhtemel risk değerlendirmelerle ilgili bilgilendirmeye ilişkin gerekliliği de söz konusudur. Ayrıca mikroçipler de bu tip bilgi sağlamada önemli rol oynayabilecek bir potansiyele sahiptirler [67]. Mikroçip çalışmalarından MOA bilgisi sonucu çıkarmak için çok sayıda metod vardır. Zebra balığı beyinde nörofarmasötiklerin etkilerinin araştırdığı son çalışmalara göre, bu balık türünde görülen etkiler memelilerdekine benzer bir örüntü göstermektedir [68,69]. Bundandır ki türler arası ekstrapolasyonlarla, balıklardan yararlanıp, bu ilaçların uzun dönemli etkileri hakkında tahminler yapabilmek mümkün olmuştur. Mikroçip çalışmalarından MOA araştırmaları için gelen diğer teknikler, Anbumani ve Kakkar tarafından derlenmiştir [70]. Ayrıca gen ürünlerinin bilinen biyolojik metabolik yollara entegrasyonu, maruz kalmayla ilişkili metabolik, işaret verme (sinyalizasyon) yada farklı yanıtları ortaya çıkarabilir. Son olarak, gen ekspresyonun fizyolojik / fenotipik etkileri ile bağlantılı fenotipik tespitleme (referans noktası) nedensel sonuç çıkarma için destek sağlamada hayati derecede önemlidir. Buradaki bir amaç, bir sonuç tahmin etmede ve biyobelirteç olarak kullanılabilmesi, genlerin kümelenmelerinin tanımlanması olarak düşünülebilir.

GO, moleküler fonksiyonları, biyolojik süreçleri ve her genin hücresel bileşenlerini tanımlamada sistematik bir metottur [71]. GO Konsorsiyumu'ndan [<http://www.geneontology.org>] yararlanarak, araştırmacı "Hangi hücresel bileşenler yada biyolojik sistemler stres kaynağından etkileniyor?" sorusuna bir yanıt belirleyebilmek için bu sınıflandırma sistemini kullanabilir [72]. GO terimlerinin görevi farklı eksprese olmuş genlerin listesini ile daha büyük etkilere ve biyolojik süreçlere ilişkin bir fikir verip, bunların etki mekanizmasını açıklamada yer alması olarak ifade edilebilir. Östrojenik bileşiklerle ilgili çalışmalarda zebra balığında [*Danio rerio*] farklı organlarda östrojenlerden ve farmasötiklerden kaynaklanan etkileri tahmin etmede GO yaklaşımından yararlanılmıştır [73–76]. Bir diğer 17- β östradiol ile ilgili mikroçip çalışmasında; koca galyan balığındaki [*Pimephales promela*] östradiol, toksisitenin muhtemel hedeflerini belirlemede GO koşulları kullanılmıştır. Bunlar kan pıhtılaşması, metabolizma, protein biosentezi, elektron transportu ve hücre büyümesinin düzenlenmesini içermektedir [77].

Bir kimyasala maruz kalmanın biyolojik sonuçlarının araştırıldığı bir diğer metod ise Kyoto Gen ve Genomların Ansiklopedisi [78] ve Gen Harita Belirlenimi [Annotasyonu] ve Metabolik Yol Profilleycisi [79] gibi veri tabanlarından yararlanılan

Metabolik Yol Haritalamadır. Bu araçlar, araştırmacıya metabolik yollarda maruz kalma çalışmalarında farklı eksprese olmuş genlerin tanımlanarak haritalanması hususunda olanak sağlar. Bir genel bakış, potansiyel hedefleri ortaya çıkarabilir ve metabolik yolun fonksiyonu üzerinde etkilerin tahmin edilmesine imkan sağlar. Villeneuve ve ark. (2007), metabolik yol analizlerini östrojenik bileşiklerin etkilerini anlamak için kullanmışlardır [80]. Villeneuve ve ark., koca galyan balığı üzerinde androjen fadrozolun etkilerinin ekotoksikogenomik çalışması bazlı bir hipotez öne sürerek, teleost beyin –hipofiz –gonadal aksinin bir grafiksel modelini kurmuşlardır. Onların modeli, beyin, hipofiz, karaciğer ve gonadlar üzerinde muhtemel risk değerlendirmeye yön vermede, moleküler yanıtla yan etki bağlantısı için gerekli bir araç sağlar. Son olarak, bazı araştırmacılar tarafından önerildiği üzere, moleküler olayların referans noktasının zıt fizyolojik sonuçları, mikroçip çalışmalarından gelen güvenilir MOA tahminleri için gereklidir [26-28,58,81-83]. Fenotipik referans noktası, moleküler olayları göstermeyle birlikte toksikolojik sonuçlar yada etken durumu ile bağlantı sağlar. Fenotipik bağlantıyı göstermek için, araştırmacılar geleneksel toksikolojik son noktaları mikroçip çalışmalarını da dahil etmişlerdir. Zebra balıklarında çevresel ilişkili konsantrasyon seviyelerinde etinilestradiolün (EE2) etkilerine ilişkin bir çalışma, EE2 nin hem erkeklerde hem de dişilerde gamet üretimini yan etki olarak etkilediğini ortaya çıkarmıştır. Çeşitli gen ailelerinin disregülasyonu (düzenleme bozukluğu) her iki cinsiyette gamet üretim bozukluğu için potansiyel bir mekanizma açıklamıştır [84]. Buna benzer şekilde çok sayıda türde endokrin bozucuların etkisi genomik düzeyde gösterilmiştir [85,86]. Bu sayede araştırmacılar, endokrin bozucu süreçlerde yer alan reseptörlerin detaylı moleküler karakterizasyonları ile olan gen ekspresyon çalışmalarından faydalanarak, bu gelişmenin bir fenotipik yanıt üretmede moleküler olayların rolünün anlaşılmasını sağlamışlardır.

4.5. Genler ile Populasyonlar Arasında Kurulan Köprü Olarak "Ekotoksikogenomik"

Çevresel risk değerlendirmede kullanılan standart ekotoksikite testlerinin cevaplayamadığı sorulara ekotoksikogenomik bir çözüm olabilir. Gen ekspresyonundaki değişimler, duyarlı son noktalar olup, çevresel etkenler için birer erken uyarı belirteçleri olabilir. Ekotoksikogenomik, düşük seviyede biyolojik organizasyonlara odaklanmayı yeğler. Buradaki amaç, hem mekanistik hem korelatif olarak gen ekspresyon yanıtları ve populasyon seviye yanıtları arasında bağlantıları keşfetmektir. Ancak LOEC [en düşük etki gözlenen konsantrasyon] ve NOEC [hiç etki gözlenmeyen konsantrasyon] değerlerinin indikatör olarak saptanmasında veri eksikliği sürmektedir [87–89]. Tutarlı bir çerçeve oluşturmak için sürecin her seviyesinde en az bir son nokta olmalıdır.

Ekotoksikite testlerinde sıklıkla kullanılan hedefler hayatta kalabilip, üreme yeteneğinde olan bireylerdir. Bu yetenekteki organizmaların sağladıkları erken uyarı sistemi ile kimyasal etkilerin düşük konsantrasyonlarda

ve üreme ile alakalı veya morfolojik etkileri görünür olmadan tespit edilebilir.

5. POTANSİYEL YARARLAR

Tartışmasız olarak, kimyasallara ilişkin insan yada ekolojik risk değerlendirmesi üzerinde genomik verinin en kayda değer etkisi, toksisite metabolik yollarını veya etki mekanizmalarını (MOA) iyi bir tanımlama olarak ifade edilebilir. Örneğin, dünya genelindeki düzenleyici kuruluşlar, hipotalamik – hipofiz – gonadal [HPG] bölgeler veya hipotalamik – hipofiz – tiroid (HPT) bölgeler arası metabolik yolu ayırtırmayı sağlayan endokrin bozucu kimyasalların potansiyel risklerine odaklanır [90-93]. Olanaksız değilse de, uzun – dönem deneyler ile potansiyel yan etkilerini de değerlendirerek endokrin bozucu kimyasalları (EBK) sınamak pek kolay değildir. Bu nedenle, bazı durumlarda görece iyi açıklanmış olan EBK’lerin potansiyeli bakımından kimyasalların öncelik verilen listesini oluşturma ile ilgili bir yayıma ihtiyaç vardır. Eğer *in vitro* veya *in vivo* sistemlerle kısa dönemli testler, bilinen etki mekanizmalarına (MOA) bağlı EBKlere genomik yanıtların profillerinin geliştirilmesi için kullanılabilirse, bu testlerin sonuçları öncelik verilen ama bilinmeyen etki mekanizmalı (MOA) kimyasallar için de daha fazla özen gösterilerek uzun soluklu çalışmalarda kullanılabilir.

Ayrıca, genomikler bir bileşimin beklenmeyen etki mekanizmalarına sahip olup olmamasına ilişkin olarak iç yüzünü kavramayı sağlayabilir. Örneğin; pestisit tescili gibi düzenleme şartlarında, *a priori* (olası) bilgi muhtemel toksik etki mekanizmalarıyla ilgilidir. Bununla birlikte, kimyasallar genellikle çok sayıda metabolik yol vasıtasıyla toksisiteye neden olur. Günümüzde, pestisit düzenlemeleri çok sayıda tür ve “kaçırılmaması gereken” beklenmedik toksisite metabolik yollarından emin olunan son noktalar ile olan çok sayıda farklı tipte teste gereksinir. Bunlar, zaman alan ancak sonunda değerli katkıları olan çok büyük çapta veri birikimi sağlayacaktır. Bununla beraber, genomik yanıt odaklı kısa dönemli sınamalar, belirlenmiş etki mekanizmaları ile “referans” toksikantlardan elde edilen bilgiler ile deney kimyasallarından gelen verilerin karşılaştırılması kullanılarak beklenmeyen toksisite metabolik yollarını tanımlamaya yardımcı olabilir [94,95]. Bu tip analizler ile elde edilen kazanımlar, deney tasarımlarını ve verilen kimyasal en uygun şekilde sınamasındaki son noktalarını özelleştirmede kullanılabilir. Böylece, daha iyi hedef etki mekanizmalarıyla genomik kullanımı, risk değerlendirmeyi etkileyen deneylere ilişkin kaynakların yatırımında odaklamaya yardımcı olabilir.

MOA’nın daha iyi tanımlanması ayrıca risk değerlendirmedeki belirsizlikleri indirmek için bilgiler de sağlayabilir. Örneğin, risk değerlendirme ile ilgili önemli kaynaklar, kimyasal karışımların toksisitesini tahminlemeyi içerir. Genomik profiller, benzer olan etkilere karşı benzer olmayan etki mekanizmaları ile ve dolaylı aditif etkiler için seçici “atık” kimyasalları ile bileşikler tanımlamada kullanılabilir. Kimyasalların etkilerinin türler boyunca

ekstrapolasyonu, genomik vasıtasıyla etki mekanizmalarını iyi anlamada bir diğer alan olarak faydalı kavramlar sağlayabilir [96]. Toksikogenomik teknikler, türler boyunca benzerlikleri ve ayrışmaları tanımlamada öncülük edebilir; dolayısıyla kimyasal tehlikelerin ekstrapolasyonunun onaylanmasına yardımcı olma, bir türden diğerine teknik olarak geçerlidir. Son olarak; MOA bilgisi, tanısal değerlendirmenin önemli kavrayışlarını sağlayabilir. Çoğu çevresel düzenlemede, organizmalar hem kimyasal hem de kimyasal olmayan çeşitli stres etkenine maruz kalır. Bu yüzden, istenilmeyen etki durumlarında meydana gelen etkilere neden olan stres etkenlerini tanımlamada zorlayıcı olabilir.

Bu durumun karşılaştırmalı basit örneği, bir düzenleyici perspektif olan atık su toksisitesini içerir. Bununla beraber, bir atık su toksik varsayıldığında, sebep olabilecek ajanların tanımlanması kimyasal karışımlarının kompleksliğinin varlığından dolayı son derece zor olabilir [karışık matriksteki kirlenici biyoetkinliğiyle ilgili belirsizlikler olduğu gibi]. Bu durum, biyolojik bazlı basit fraksiyon prosedürlerinin gelişimine öncülük ederek, basit toksisite türlerinden sorumlu spesifik kimyasalları belirlemeye yardımcı olur [97]. Bu yaklaşımlar, çeşitli türler, son noktalara ve test matrislerine başarıyla adapte olur. Toksikogenomik veriler kullanarak, kirlenicilerin kompleks maruz kalan organizmalarda biyolojik olarak toksisite metabolik yollarını tanımlama, TTD sürecine iyi bir destek olabilir. Örneğin, günümüzde, toksisite verileri bulunabilir veya bir küçük karşılaştırmalı altkümü ile kaynak gereksizinden dolayı yeni kimyasallar üretilebilir [98]. REACH programı (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) önümüzdeki yıllarda, binlerce kimyasalın güvenilir değerlendirmelerine gereksinerek bu belirsizliklere hitap etme arayışında fayda sağlayacaktır [99,100]. Toksikogenomik teknikler; çok sınırlı örneklemelerden gelen çoklu potansiyel toksisiteyi yansıtan ilgili taranan verilerle bir arada değerlendirildiğinde güzel sonuçlar verebilir. Bu yaklaşım kaynakları en uygun şekilde kullanarak, hayvan kullanımını da sınırlar. Dolayısıyla kimyasallar için risk değerlendirmeleri, genomikteki geniş uygulamaları ile kısa dönemde akla uygun olarak beklenilebilen bir gelişime geçirmese de bu yaklaşım kavramsal olarak sağlamdır.

5.1. Ekotoksikogenomik Geleceği

Yeni ekotoksikogenomik metodlarının gücü ve toksikolojide devrim yapma potansiyelleri vardır. Protein antikoları ile toksikolojik olarak ilişkili ve çok sayıda küçük molekülün profil tayinlerinin gelişiminde gaz kromatografisi, sıvı kromatografi veya kütle spektrometre kullanılır [101]. Toksikoproteomik araştırma, tanımlamada, ölçmede ve protein ile diğer biyobelirteçlerin değerlendirmesinde şu an mevcut olanlardan daha tutarlı, duyarlı ve spesifik bir düzeye tartışmayı taşımayı öngörür. Metabonomik araştırmalar “metabolit parmak izleri” gibi spesifik kimyasallara, çevresel maruz kalmaya yada hastalığa neden olan stres etkenleri ile ilgili durumlarda önemli metabolik olayların

sekansında küçük endojen moleküllerinin seviyelerindeki değişimlerin tanımlanmasında yardımcı olacaktır. Bu aşamadan sonra göz önüne alınacak durumlar bireysel genotipler, yaşam biçimleri, yaş, maruz kalma geçmişi gibi çevresel maruz kalmaya toksikogenomik yanıtları değerlendirmeler biçiminde olacaktır [102,103]. Ekotoksikogenomik, çevresel gerçekçi doza genomik yanıtların global gözlemi vasıtasıyla toksikoloji ile ilgili çalışmalarında artan bir değer olarak yerini alacaktır. Çok sayıda ve çok sınıftaki ajanların etki mekanizmaları betimleyecek ve belli tür ve populasyon alt gruplarının etki mekanizmalarını yorumlayabilen eşsiz genetik özellikleri gösterebilecektir. Bir tür içindeki soylarla ilgili çalışmalar, o kimyasala duyarlı yada dirençli olmaları ile spesifik hastalıklarda bu kimyasalların neden olma durumlarını değerli kılan yolları göstereceklerdir [82]. Bu düşüncüyü hem ana korunmuş biyolojik süreçlere hem de farklı türlerdeki görünen toksikolojik yanıtlar ile genişletmek; genetik hassaslığın karşılaştırmalı kavranmasını ve muhtemel hastalık sonuçlarının kapsamlı ele alınmasını sağlayacaktır.

Sonuç olarak -omik teknolojilerinden yararlanılan bu tip uygulamalar, toksisite mekanizmasını kapsamlı olarak anlamamızı sağlayarak *in vivo* ve/veya *in vitro* deney sistemleri ile entegre olmuş toksikogenomik veri tabanları olarak hastalık etiolojisinin geniş biçimde tamamlanmasını geliştirecektir. Doz, zaman, hedef doku ve türler arasında fenotipik yalınlık gibi içeriklerden toplanan geni protein, metabolit değişim verileri gen – çevre etkileşimlerinde genetik ve moleküler bazıları değerlendirme gerektiren karşılaştırmalı bilgileri sağlayacaktır. Böylece toksikoloji, biyolojik türler, kimyasal sınıflar ve hastalık sonuçları arasında bilimsel keşfi kolaylaştıran bir bilgi bilimi olarak ortaya çıkacaktır. Biyoinformatik metotlarının ve veri toplama araçlarının gelişimi 21. yüzyılda çevresel etkilere maruz kalma ile ilgili hastalıkların yan etkilerinden korunma yada azaltılmasında ekotoksikogenomik, multidisipliner kimliği ile hem erken uyarı değerlendirilmesini hem de kirlenmeye maruz kalmanın ekosistemde oluşturduğu risklerin moleküler düzeyde etki mekanizmalarının açıklanmasını sağlayan bir bilim dalı olarak yerini alacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmanın değerlendirilmesinde yerinde tespitleri ve yönlendirici soruları ile katkı sağlayan değerli hakemlere teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

[1] Snape JR, Maund SJ, Pickford DB, Hutchinson TH. Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquatic toxicology*. 2004;67(2):143-54.

[2] Nuwaysir EF, Bittner M, Trent J, Barrett JC, Afshari CA. Microarrays and toxicology: the advent of toxicogenomics. *Molecular Carcinogenesis*: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center. 1999;24(3):153-9.

[3] Fielden MR, Zacharewski TR. Challenges and limitations of gene expression profiling in mechanistic and predictive toxicology. *Toxicological sciences*. 2001;60(1):6-10.

[4] Thomas RS, Rank DR, Penn SG, Zastrow GM, Hayes KR, Pande K, vd. Identification of toxicologically predictive gene sets using cDNA microarrays. *Molecular Pharmacology*. 2001;60(6):1189-94.

[5] Hamadeh HK, Bushel PR, Jayadev S, Martin K, DiSorbo O, Sieber S, vd. Gene expression analysis reveals chemical-specific profiles. *Toxicological Sciences*. 2002;67(2):219-31.

[6] Tennant RW. The National Center for Toxicogenomics: using new technologies to inform mechanistic toxicology. *Environmental health perspectives*. 2002;110(1):A8-10.

[7] Ulrich R, Friend SH. Toxicogenomics and drug discovery: will new technologies help us produce better drugs? *Nature Reviews Drug Discovery*. 2002;1(1):84-8.

[8] Olden K. Genomics in environmental health research—opportunities and challenges. *Toxicology*. 2004;198(1-3):19-24.

[9] Lettieri T. Recent applications of DNA microarray technology to toxicology and ecotoxicology. *Environmental health perspectives*. 2006;114(1):4-9.

[10] Sanchez BC, Ralston-Hooper K, Sepúlveda MS. Review of recent proteomic applications in aquatic toxicology. *Environmental toxicology and chemistry*. 2011;30(2):274-82.

[11] Dorts J, Kestemont P, Marchand P-A, D'Hollander W, Thézenas M-L, Raes M, vd. Ecotoxicoproteomics in gills of the sentinel fish species, *Cottus gobio*, exposed to perfluorooctane sulfonate (PFOS). *Aquatic Toxicology*. 2011;103(1-2):1-8.

[12] Gomes T, Pereira CG, Cardoso C, Pinheiro JP, Cancio I, Bebianno MJ. Accumulation and toxicity of copper oxide nanoparticles in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*. 2012;118:72-9.

[13] Vidal-Dorsch DE, Bay SM, Moore S, Layton B, Mehinto AC, Vulpe CD, vd. Ecotoxicogenomics: Microarray interlaboratory comparability. *Chemosphere*. 2016;144:193-200.

[14] Abbas A, Valek L, Schneider I, Bollmann A, Knopp G, Seitz W, vd. Ecotoxicological impacts of surface water and wastewater from conventional and advanced treatment technologies on brood size, larval length, and cytochrome P450 (3A3) expression in *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018;25(14):13868-80.

[15] Campos B, Fletcher D, Piña B, Tauler R, Barata C. Differential gene transcription across the life cycle in *Daphnia magna* using a new all genome custom-made microarray. *BMC genomics*. 2018;19(1):370.

[16] Campana O, Wlodkowic D. Ecotoxicology goes on a chip: embracing miniaturized bioanalysis in aquatic risk assessment. *Environmental science & technology*. 2018;52(3):932-46.

- [17] Prat O, Degli-Esposti D. New Challenges: Omics Technologies in Ecotoxicology. *Içinde: Ecotoxicology*. Elsevier; 2019. s. 181-208.
- [18] Lee B-Y, Choi B-S, Kim M-S, Park JC, Jeong C-B, Han J, vd. The genome of the freshwater water flea *Daphnia magna*: A potential use for freshwater molecular ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*. 2019;210:69-84.
- [19] Fröhlich E. Role of omics techniques in the toxicity testing of nanoparticles. *Journal of nanobiotechnology*. 2017;15(1):84.
- [20] Simões T, Novais SC, Natal-da-Luz T, Devreese B, de Boer T, Roelofs D, vd. An integrative omics approach to unravel toxicity mechanisms of environmental chemicals: effects of a formulated herbicide. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-12.
- [21] Martínez R, Navarro-Martín L, Luccarelli C, Ortiz-Villanueva E, Codina AE, Raldúa D, vd. Applying omic techniques to unravel distinct pathways of PFOS toxicity in zebrafish eleutheroembryos. 2019;
- [22] Krizkova S, Kepinska M, Emri G, Rodrigo MAM, Tmejova K, Nerudova D, vd. Microarray analysis of metallothioneins in human diseases—A review. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2016;117:464-73.
- [23] Searfoss GH, Jordan WH, Calligaro DO, Galbreath EJ, Schirtzinger LM, Berridge BR, vd. Adipsin, a biomarker of gastrointestinal toxicity mediated by a functional γ -secretase inhibitor. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(46):46107-16.
- [24] Ampe F. The use of nanopore sequencing in ecotoxicology. Ghent university; 2019.
- [25] Bláha L, Hofman J. Ecotoxicology of Environmental Pollutants. *Içinde: Advanced Nano-Bio Technologies for Water and Soil Treatment*. Springer; 2020. s. 549-72.
- [26] Poynton HC. Insights from ‘Omics on the Exposure and Effects of Engineered Nanomaterials on Aquatic Organisms. *Içinde: Ecotoxicology of Nanoparticles in Aquatic Systems*. CRC Press; 2019. s. 189-207.
- [27] Caballero-Gallardo K, Olivero-Verbel J, L Freeman J. Toxicogenomics to evaluate endocrine disrupting effects of environmental chemicals using the zebrafish model. *Current genomics*. 2016;17(6): s515-27.
- [28] Messerlian C, Martinez RM, Hauser R, Baccarelli AA. “Omics” and endocrine-disrupting chemicals—new paths forward. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13(12):740.
- [29] Oliveira E, Barata C, Piña B. Endocrine disruption in the omics era: new views, new hazards, new approaches. *The Open Biotechnology Journal*. 2016;10(1): s20-35.
- [30] Kim B-M, Kim J, Choi I-Y, Raisuddin S, Au DW, Leung KM, vd. Omics of the marine medaka (*Oryzias melastigma*) and its relevance to marine environmental research. *Marine environmental research*. 2016;113:141-52.
- [31] Lv X, Xiao S, Zhang G, Jiang P, Tang F. Occurrence and removal of phenolic endocrine disrupting chemicals in the water treatment processes. *Scientific reports*. 2016;6(1):1-10.
- [32] Mennigen JA, Thompson LM, Bell M, Santos MT, Gore AC. Transgenerational effects of polychlorinated biphenyls: 1. Development and physiology across 3 generations of rats. *Environmental Health*. 2018;17(1):18.
- [33] Chen H, Zhao L, Yu QJ. Determination and reduced life expectancy model and molecular docking analyses of estrogenic potentials of 17 β -estradiol, bisphenol A and nonylphenol on expression of vitellogenin gene (*vtg1*) in zebrafish. *Chemosphere*. 2019;221:727-34.
- [34] Rao MS, Van Vleet TR, Ciurlionis R, Buck WR, Mittelstadt SW, Blomme EA, vd. Comparison of RNA-seq and microarray gene expression platforms for the toxicogenomic evaluation of liver from short-term rat toxicity studies. *Frontiers in genetics*. 2019;9:636.
- [35] Gismondi E. Identification of molt-inhibiting hormone and ecdysteroid receptor cDNA sequences in *Gammarus pulex*, and variations after endocrine disruptor exposures. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2018;158:9-17.
- [36] Salama RM, Abd Elwahab AH, Abd-Elgalil MM, Elmongy NF, Schaalán MF. LCZ696 (sacubitril/valsartan) protects against cyclophosphamide-induced testicular toxicity in rats: Role of neprilysin inhibition and lncRNA TUG1 in ameliorating apoptosis. *Toxicology*. 2020;152439.
- [37] Jiang W, Zhao H, Zhang L, Wu B, Zha Z. Maintenance of mitochondrial function by astaxanthin protects against bisphenol A-induced kidney toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;121:109629.
- [38] Osorio D, Pinzón A, Martín-Jiménez C, Barreto GE, González J. Multiple pathways involved in palmitic acid-induced toxicity: A system biology approach. *Frontiers in neuroscience*. 2020;13:1410.
- [39] Sharma N, Saifi MA, Singh SB, Godugu C. In vivo studies: toxicity and biodistribution of nanocarriers in organisms. *Içinde: Nanotoxicity*. Elsevier; 2020. s. 41-70.
- [40] Yauk CL, Harrill AH, Ellinger-Ziegelbauer H, van der Laan JW, Moggs J, Froetschl R, vd. A cross-sector call to improve carcinogenicity risk assessment through use of genomic methodologies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020;110:104526.
- [41] Lemos MF, Soares AM, Correia AC, Esteves AC. Proteins in ecotoxicology—how, why and why not? *Proteomics*. 2010;10(4):873-87.
- [42] Veldhoen N, Ikonomou MG, Helbing CC. Molecular profiling of marine fauna: integration of omics with environmental assessment of the world’s oceans. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2012;76:23-38.
- [43] Zhang Q, Li J, Middleton A, Bhattacharya S, Conolly RB. Bridging the data gap from in vitro toxicity testing to chemical safety assessment through computational modeling. *Frontiers in public health*. 2018;6:261.

- [44] Udofia UU, Edet UO, Antai SP. Potential Benefits of Applying “Omics” Technology in Cleaning up Incessant Crude Oil Spillages in the Niger Delta Region of Nigeria. *Advances in Research*. 2018;1-8.
- [45] Campos A, Tedesco S, Vasconcelos V, Cristobal S. Proteomic research in bivalves: towards the identification of molecular markers of aquatic pollution. *Journal of Proteomics*. 2012;75(14):4346-59.
- [46] Waters MD, Fostel JM. Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects. *Nature Reviews Genetics*. 2004;5(12):936-48.
- [47] Hines A, Staff FJ, Widdows J, Compton RM, Falciani F, Viant MR. Discovery of metabolic signatures for predicting whole organism toxicology. *Toxicological Sciences*. 2010;115(2):369-78.
- [48] Nair PMG, Choi J. Identification, characterization and expression profiles of *Chironomus riparius* glutathione S-transferase (GST) genes in response to cadmium and silver nanoparticles exposure. *Aquatic toxicology*. 2011;101(3-4):550-60.
- [49] Dondero F, Banni M, Negri A, Boatti L, Dagnino A, Viarengo A. Interactions of a pesticide/heavy metal mixture in marine bivalves: a transcriptomic assessment. *BMC genomics*. 2011;12(1):195.
- [50] Choi JS, Kim R-O, Yoon S, Kim W-K. Developmental toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*): a transcriptomic analysis. *PLoS One*. 2016;11(8).
- [51] Morgens DW, Wainberg M, Boyle EA, Ursu O, Araya CL, Tsui CK, vd. Genome-scale measurement of off-target activity using Cas9 toxicity in high-throughput screens. *Nature communications*. 2017;8(1):1-8.
- [52] Hook SE, Mondon J, Revill AT, Greenfield PA, Smith RA, Turner RD, vd. Transcriptomic, lipid, and histological profiles suggest changes in health in fish from a pesticide hot spot. *Marine environmental research*. 2018;140:299-321.
- [53] Davis AP, Grondin CJ, Johnson RJ, Sciaky D, McMorran R, Wieggers J, vd. The comparative toxicogenomics database: update 2019. *Nucleic acids research*. 2019;47(D1):D948-54.
- [54] Aguayo-Orozco A, Taboureau O, Brunak S. The use of systems biology in chemical risk assessment. *Current Opinion in Toxicology*. 2019;
- [55] Jager T, Vandenbrouck T, Baas J, De Coen WM, Kooijman SA. A biology-based approach for mixture toxicity of multiple endpoints over the life cycle. *Ecotoxicology*. 2010;19(2):351-61.
- [56] Kumar R, Weigel S, Meyer R, Niemeyer CM, Fuchs H, Hirtz M. Multi-color polymer pen lithography for oligonucleotide arrays. *Chemical Communications*. 2016;52(83):12310-3.
- [57] Lobenhofer EK, Cui X, Bennett L, Cable PL, Merrick BA, Churchill GA, vd. Exploration of low-dose estrogen effects: identification of No Observed Transcriptional Effect Level (NOTEL). *Toxicologic pathology*. 2004;32(4):482-92.
- [58] Fukushima T, Hara-Yamamura H, Nakashima K, Tan LC, Okabe S. Multiple-endpoints gene alteration-based (MEGA) assay: A toxicogenomics approach for water quality assessment of wastewater effluents. *Chemosphere*. 2017;188:312-9.
- [59] Poynton HC, Loguinov AV, Varshavsky JR, Chan S, Perkins EJ, Vulpe CD. Gene expression profiling in *Daphnia magna* part I: concentration-dependent profiles provide support for the no observed transcriptional effect level. *Environmental science & technology*. 2008;42(16):6250-6.
- [60] Crawford KA, Clark BW, Heiger-Bernays WJ, Karchner SI, Henn BGC, Griffith KN, vd. Altered lipid homeostasis in a PCB-resistant Atlantic killifish (*Fundulus heteroclitus*) population from New Bedford Harbor, MA, USA. *Aquatic toxicology*. 2019;210:30-43.
- [61] Riley AK, Chernick M, Brown DR, Hinton DE, Di Giulio RT. Hepatic responses of juvenile *Fundulus heteroclitus* from pollution-adapted and nonadapted populations exposed to Elizabeth River sediment extract. *Toxicologic pathology*. 2016;44(5):738-48.
- [62] Li H, Zhang J, You J. Diagnosis of complex mixture toxicity in sediments: Application of toxicity identification evaluation (TIE) and effect-directed analysis (EDA). *Environmental Pollution*. 2018;237:944-54.
- [63] Arzuaga X, Walker T, Yost E, Radke E, Hotchkiss A. Use of the Adverse Outcome Pathway (AOP) framework to evaluate species concordance and human relevance of Dibutyl Phthalate (DBP)-induced male reproductive toxicity. *Reproductive Toxicology*. 2019;
- [64] Liu W, Wu Y, Wang C, Li HC, Wang T, Liao CY, vd. Impact of silver nanoparticles on human cells: effect of particle size. *Nanotoxicology*. 2010;4(3):319-30.
- [65] Krasnov A, Koskinen H, Rexroad C, Afanasyev S, Mölsä H, Oikari A. Transcriptome responses to carbon tetrachloride and pyrene in the kidney and liver of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*. 2005;74(1):70-81.
- [66] Henry TB, Menn F-M, Fleming JT, Wilgus J, Compton RN, Sayler GS. Attributing effects of aqueous C60 nano-aggregates to tetrahydrofuran decomposition products in larval zebrafish by assessment of gene expression. *Environmental Health Perspectives*. 2007;115(7):1059-65.
- [67] Wagner M, Kienle C, Vermeirssen EL, Oehlmann J. Endocrine disruption and in vitro ecotoxicology: Recent advances and approaches. İçinde: *In vitro Environmental Toxicology-Concepts, Application and Assessment*. Springer; 2017. s. 1-58.
- [68] Roper C, Tanguay RL. Zebrafish as a model for developmental biology and toxicology. İçinde: *Handbook of Developmental Neurotoxicology*. Elsevier; 2018. s. 143-51.
- [69] Bertotto LB, Catron TR, Tal T. Exploring interactions between xenobiotics, microbiota, and neurotoxicity in zebrafish. *NeuroToxicology*. 2020;76:235-44.
- [70] Anbumani S, Kakkar P. Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review. *Environmental*

- Science and Pollution Research. 2018;25(15):14373-96.
- [71] Bada M, Stevens R, Goble C, Gil Y, Ashburner M, Blake JA, vd. A short study on the success of the Gene Ontology. *Journal of web semantics*. 2004;1(2):235-40.
- [72] Gene Ontology Resource [Internet]. Gene Ontology Resource. [a.yer 13 Şubat 2020]. Erişim adresi: <http://geneontology.org/>
- [73] Ebrahimie E, Fruzangohar M, Moussavi Nik SH, Newman M. Gene ontology-based analysis of zebrafish omics data using the web tool comparative gene ontology. *Zebrafish*. 2017;14(5):492-4.
- [74] Ruzicka L, Howe DG, Ramachandran S, Toro S, Van Slyke CE, Bradford YM, vd. The Zebrafish Information Network: new support for non-coding genes, richer Gene Ontology annotations and the Alliance of Genome Resources. *Nucleic acids research*. 2019;47(D1):D867-73.
- [75] Newman M, Hin N, Pederson S, Lardelli M. Brain transcriptome analysis of a familial Alzheimer's disease-like mutation in the zebrafish presenilin 1 gene implies effects on energy production. *Molecular brain*. 2019;12(1):43.
- [76] Howe DG, Bradford YM, Eagle A, Fashena D, Frazer K, Kalita P, vd. The Zebrafish Model Organism Database: new support for human disease models, mutation details, gene expression phenotypes and searching. *Nucleic acids research*. 2017;45(D1):D758-68.
- [77] Larkin P, Villeneuve DL, Knoebl I, Miracle AL, Carter BJ, Liu L, vd. Development and validation of a 2,000-gene microarray for the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 2007;26(7):1497-506.
- [78] KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [Internet]. [a.yer 13 Şubat 2020]. Erişim adresi: <https://www.genome.jp/kegg/>
- [79] GenMAPP - Download Area [Internet]. [a.yer 17 Şubat 2020]. Erişim adresi: <http://www.genmapp.org/>
- [80] Villeneuve DL, Larkin P, Knoebl I, Miracle AL, Kahl MD, Jensen KM, vd. A graphical systems model to facilitate hypothesis-driven ecotoxicogenomics research on the teleost brain-pituitary-gonadal axis. *Environmental science & technology*. 2007;41(1):321-30.
- [81] Xu Z, Liu J, Wu X, Huang B, Pan X. Nonmonotonic responses to low doses of xenoestrogens: a review. *Environmental research*. 2017;155:199-207.
- [82] Liu Z, Huang R, Roberts R, Tong W. Toxicogenomics: A 2020 Vision. *Trends in pharmacological sciences*. 2019;40(2):92-103.
- [83] Vahle JL, Anderson U, Blomme EA, Hoflack J-C, Stiehl DP. Use of toxicogenomics in drug safety evaluation: Current status and an industry perspective. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2018;96:18-29.
- [84] Santos EM, Paull GC, Van Look KJ, Workman VL, Holt WV, Van Aerle R, vd. Gonadal transcriptome responses and physiological consequences of exposure to oestrogen in breeding zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic toxicology*. 2007;83(2):134-42.
- [85] Wilkinson J. *Environmental Epigenetics: The Enviro-genomic Interface*. 2018;
- [86] Patisaul HB, Fenton SE, Aylor D. Animal models of endocrine disruption. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018;32(3):283-97.
- [87] Fedorenkova A, Vonk JA, Lenders HR, Ouborg NJ, Breure AM, Hendriks AJ. Ecotoxicogenomics: Bridging the gap between genes and populations. *Environmental science & technology*. 2010;44(11):4328-33.
- [88] Amiard-Triquet C. How to improve toxicity assessment? From single-species tests to mesocosms and field studies. İçinde: *Aquatic Ecotoxicology*. Elsevier; 2015. s. 127-51.
- [89] Wang Y, Na G, Zong H, Ma X, Yang X, Mu J, vd. Applying adverse outcome pathways and species sensitivity-weighted distribution to predicted-no-effect concentration derivation and quantitative ecological risk assessment for bisphenol A and 4-nonylphenol in aquatic environments: A case study on Tianjin City, China. *Environmental toxicology and chemistry*. 2018;37(2):551-62.
- [90] Scognamiglio V, Antonacci A, Patrolecco L, Lambrea MD, Litescu SC, Ghuge SA, vd. Analytical tools monitoring endocrine disrupting chemicals. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016;80:555-67.
- [91] McMullen PD, Pendse S, Adeleye Y, Carmichael PL, Andersen ME, Clewell RA. Using Transcriptomics to Evaluate Thresholds in Genotoxicity Dose-Response. İçinde: *Toxicogenomics in Predictive Carcinogenicity*. Royal Society of Chemistry; 2016. s. 185-208.
- [92] Haggard D. *Classifying Chemical Bioactivity by Coupling High-throughput Phenotypic Anchoring and Transcriptome Profiling in Zebrafish*. 2016;
- [93] Mahaye N, Thwala M, Cowan DA, Musee N. Genotoxicity of metal based engineered nanoparticles in aquatic organisms: A review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2017;773:134-60.
- [94] Kuhn RM, Karolchik D, Zweig AS, Wang T, Smith KE, Rosenbloom KR, vd. The UCSC genome browser database: update 2009. *Nucleic acids research*. 2009;37(suppl_1):D755-61.
- [95] Grondin CJ, Davis AP, Wieggers TC, Wieggers JA, Mattingly CJ. Accessing an expanded exposure science module at the Comparative Toxicogenomics Database. *Environmental health perspectives*. 2018;126(1):014501.
- [96] Saito F. *Mechanism-Based Evaluation System for Hepato-and Nephrotoxicity or Carcinogenicity Using Omics Technology*. İçinde: *Alternatives to Animal Testing*. Springer; 2019. s. 91-104.
- [97] Baker TK, Engle SK, Halstead BW, Paisley BM, Searfoss GH, Willy JA. *Discover Toxicology: An Early Safety Assessment Approach*. İçinde:

- Translating Molecules into Medicines. Springer; 2017. s. 119-62.
- [98] Wu J-Q, Zhang S-S, Gao H, Qi Z, Zhou C-J, Ji W-W, vd. Experimental and theoretical studies on rhodium-catalyzed coupling of benzamides with 2, 2-difluorovinyl tosylate: diverse synthesis of fluorinated heterocycles. *Journal of the American Chemical Society*. 2017;139(9):3537-45.
- [99] Taboureau O, Audouze K, Brunak S. 3 REACH and Environmental. *Computational Methods for Reproductive and Developmental Toxicology*. 2015;23.
- [100] Broeckaert F, Rossi LH. Regulatory needs for the assessment of respiratory sensitisation under REACH and CLP. *Toxicology Letters*. 2017; 280:S60.
- [101] Maggi L, Zalacain A, Mazzoleni V, Alonso GL, Salinas MR. Comparison of stir bar sorptive extraction and solid-phase microextraction to determine halophenols and haloanisoles by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2008;75(3):753-9.
- [102] Shamim N, Gupta A, Paul V, Vida E. Nutritional genomics: A review. *The Pharma Innovation*. 2017;6(4, Part A):17: 167-191.
- [103] Gao Y, Chen J. Informatics for Nutritional Genetics and Genomics. İçinde: *Translational Informatics in Smart Healthcare*. Springer; 2017. 143-66.



Aydın'ın Değerlerinden Biri Olan Kestane Meyvesinin Önemi

Nergiz YÜKSEL^{*1,2}, Eda ÜLKERYILDIZ BALÇIK¹, Derya DENİZ ŞİRİNYILDIZ¹, Ziya BİNAT^{1,3}, Olcay BOYACIOĞLU^{1,4}

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 09100 Aydın, Türkiye

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Germencik Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, 09700 Germencik, Aydın, Türkiye

³T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İncirliova, Aydın, Türkiye

⁴Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 09100 Aydın, Türkiye

Nergiz YÜKSEL ORCID No: 0000-0002-1334-051X

Eda ÜLKERYILDIZ BALÇIK ORCID No: 0000-0003-1424-1043

Derya DENİZ ŞİRİNYILDIZ ORCID No: 0000-0002-6491-5512

Ziya BİNAT ORCID No: 0000-0003-0145-8497

Olcay BOYACIOĞLU ORCID No: 0000-0003-0436-3020

*Sorumlu yazar: nergiz.yuksel@adu.edu.tr

(Alınış: 02.04.2020, Kabul: 07.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler
Kestane,
Aydın,
İhracat,
Üretim

Öz: Fagaceae familyasının Castanea cinsine ait olan Castanea sativa Mill, yüz yıllardır tüketilen kestane meyvesidir. Besin içeriği bakımından zengin olan kestane meyvesinin antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antikardiyovasküler ve antispazmodik özellikleri bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kestane meyvesinin biyokimyasal özellikleri ile kestane üretimi ve ticaretinin Aydın özelinde değerlendirilmesidir.

Çalışmada çeşitli kurum ve kuruluşlardan elde edilen kestane üretim ve ticaret verileri temel istatistik yöntemlerle karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir. Buna göre Türkiye, yıllık 60.000-65.000 ton kestane üretim miktarı ile Çin ve Güney Kore' den sonra üçüncü sırayı almaktadır. Aydın ili ise yıllık 20.000-26.000 ton kestane üretimi ile ülke genelinde ilk sıradadır. Aydın ilinde kestane ihracat miktarı, üretim miktarına göre oldukça düşük kalmaktadır. Gerek Aydın ilinde üretilen kestanenin çoğunun ihracata yönelik olmaması, gerekse kestanenin istenilen düzeyde üretilmemesi nedeniyle Aydın ili kestane meyvesi ile çok fazla anılmamaktadır. Biyokimyasal ve sağlık yönüyle bu kadar faydalı olan kestane meyvesinin üretim miktarı yönünden ilk sırada olan Aydın ilinde kestane işleme ve ihracatına yönelik farklı stratejiler izlenmesinin gerekli olduğu belirtilebilmektedir. Ayrıca, kestanenin gıda işleme prosesleri için farklı katma değer katacak yan ürün üretimine yönelik atılacak adımların, Aydın ekonomisi için potansiyeli tam olarak değerlendirilemeyen kestanenin geleceği açısından pozitif değer katabileceği düşünülmektedir.

The Importance of the Chestnut Fruit Which is One of the Values of Aydın

Keywords
Aydın,
Chestnut,
Export,
Production

Abstract: Castanea sativa Mill, belonging to the genus Castanea of the Fagaceae family, is a chestnut fruit consumed for centuries. Chestnut fruit, rich in nutrient content, has antimicrobial, antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, anticonvulsant and antispasmodic properties. The aim of this study is to evaluate the biochemical properties of chestnut fruit and chestnut production and trade in Aydın. In this study, chestnut production and trade data obtained from various institutions and organizations were compared and evaluated with basic statistical methods. Accordingly, Turkey 60000-65000 tons of annual production quantity chestnut with China and South Korea are in third place after the. The province of Aydın ranks the first place in the country with an annual production of 20.000-26.000 tons of chestnuts. The amount of chestnut export in Aydın is quite low compared to the production amount. Because of the fact that most of the chestnuts produced in Aydın are not used for export purposes and the chestnut products are not produced at the desired level, the province of Aydın is not mentioned much with chestnut fruit. Aydın is not mentioned much with chestnut fruit. It can be stated that it is necessary to follow

different strategies for chestnut processing and export in Aydın, which is the first in terms of production amount of chestnut fruit, which is so beneficial in terms of biochemical and health. In addition, it is thought that the steps to be taken for the by-product production of chestnuts, which will add different added value for food processing processes, may add positive value for the future of the chestnut, whose potential for the Aydın economy cannot be fully utilized.

1. GİRİŞ

Castanea sativa Mill. genel olarak “kestane” ya da “tatlı kestane” adı ile bilinen kayın (*Fagus*), meşe (*Quercus*) gibi ağaçları da içine alan Fagaceae familyasının *Castanea* cinsine aittir. Bu ağaç iri yapraklara, sarı renkli çiçeklere, sert kabuklu meyvelere sahip olup çapı 2 m’ye boyu ise 25-30 m’ye kadar ulaşabilmektedir. Meyveleri geleneksel gıda olarak uzun yıllardır tüketildiği gibi, tütün yaprakları ve odunu da değerlendirilebildiğinden, ekonomik önemi oldukça yüksektir [1-4]. Kestane, ılıman iklime sahip 6 ay boyunca ortalama sıcaklık 10 °C'nin üzerinde seyreden bölgelerde yetiştirilir. Türe göre değişmekle birlikte, minimum 600 ile 800 mm arasında değişen bir yağışa ihtiyaç duyarlar. Doğu’da, Çin bölgesinde doğmuştur ve Batı’ya doğru genişleyerek Akdeniz bölgesine ulaşmıştır [3,4]. Özellikle Batı Türkiye, Yunanistan ve Batı Akdeniz ülkelerine ulaşmasında insan faktörünün etkisinin yüksek olduğu düşünülmektedir [1].

Günümüzde Dünya’nın önde gelen kestane yetiştiricisi ülkeler Çin (%70 üzeri üretim oranı ile ilk sırada), Kore, Japonya, ABD, İtalya ve Türkiye’dir [5,4]. Kestanenin bilinen 13 türünden yalnızca Güney Avrupa ve Anadolu’da yetişen *C. sativa Mill.*, Çin’de yetişen *C. mollissima Bl.*, Japonya’da yetişen *C. crenata Sieb Zucc.* ve ABD’nin doğusunda yetişen *C. dentata Borkh* türleri ekonomik öneme sahiptirler [2]. En son raporlar, kestane üretim miktarları göz önüne alındığında Türkiye’nin Dünya’da üçüncü sırada yer aldığını göstermektedir [6]. Ülkemizde doğal olarak Ege, Akdeniz, Marmara ile Batı Karadenizde nın yetişmektedir. Ülkemizde, Aydın’ın Nazilli ilçesi ağaç sayısı ve kestane üretimi bakımından ilk sırada yer almaktadır. Ayrıca Antalya, İzmir, Sinop, Kastamonu, Kütahya, Bartın, Balıkesir, Manisa ve Zonguldak illerinde de kestane üretimi mevcuttur [5,3]. Anadolu’da kestane yetiştiriciliği eski zamanlara dayandığından, farklı ağaç özelliklerine ve meyve kalitesine sahip çok sayıda kestane genotipi ortaya çıkmıştır. Bu çeşitlilik kestaneleri; verim, tat, renk, şekil, meyve boyutu, soyulma durumu ve kalite açısından etkilemiştir [5].

Bu çalışmada, kestane meyvesinin tanıtılması, öneminin belirtilmesi, üretim miktarı açısından Türkiye’nin Dünya’daki yerinin belirlenmesi ve Aydın ilinin ülkemiz kestane ekonomisi üzerine etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

2. KESTANENİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Kestane meyvesi, genellikle karbonhidrat (nişasta ve şeker), az oranda lif, protein ve yağ içermektedir. 100 gr kestanedeki (yenilebilir kısmı) besin öğeleri: 160 kcal kalori, 34 g karbonhidrat, 9,6 g şeker, 3,2 g protein, 1,8 g

yağ, 9 mg sodyum, 395 mg potasyum şeklindedir [7]. Kestane meyvesinin besleyici değerleri kestane çeşidine, yetiştiği ekolojik şartlara ve tipine göre değişir. Aynı zamanda da yapılan işleme tekniğine göre farklılaşmaktadır [8]. Taze kestanenin, tavsiye edilen, günlük alım miktarı 47,65 g kuru madde/100 g taze kestane olarak hesaplanmıştır. Bu, vücut kitle indeksine (VKİ) bağlı olarak, tavsiye edilen günlük alım miktarının kadınlar için yaklaşık % 9,0-9,8’ini ve erkekler için % 7,7-8,8’ini temsil etmektedir [9].

Yenilebilir taze kestane meyvesi miktar olarak ise, 3,5-5 g 100 g-1 protein içermektedir. Bu miktarlar sütte bulunan protein miktarı seviyesindedir. Proteinin yapı taşlarını oluşturan amino asitlerin bir kısmı vücut tarafından sentezlenebildiği gibi bir kısmı da mutlaka dışarıdan alınması zorunludur. Bir gram kestane proteini 11,7 mg triptofan, 54,3 mg lizin, 50,2 mg metiyonin içermektedir [10].

Kestane, karbonhidrat içeriği yönünden oldukça zengindir. Toplam karbonhidrat miktarının önemli bir kısmını nişasta oluşturmakta olup, ortalama 25 g 100 g-1’dir. Kestanenin şeker bileşenleri ise ortalama 10 g 100 g-1 dolaylarındadır. Şeker bileşenlerinin önemli bir kısmı sakkarozdur ve ortalama 8 g 100 g-1’dir. Geriye kalan şekerler glikoz, fruktoz ve maltozdur [11].

Kalori değeri ve besleyici değeri yüksek olan kestane, C, B1 ve B2 vitaminleri açısından da oldukça zengin bir meyvedir. Ayrıca fosfor, potasyum, klor, magnezyum, sodyum, demir, kalsiyum mineralleri de bulundurmaktadır [7]. Kestanenin mineral madde kompozisyonu incelendiğinde potasyum ön plana çıkmaktadır. Yenilebilir kestane meyvesinde ortalama 500 mg 100 g-1 seviyesinde olup, günlük alınması gereken potasyum miktarı 3000 mg civarındadır. Potasyumun sinir sistemi fonksiyonlarının yerine getirilmesinde ve kasların özellikle de kalp kaslarının çalışmalarında etkili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, potasyumun diüretik etkisi bulunmaktadır. Kalsiyum ve fosfor kemiklerin özellikle de dişlerin güçlenmesine ve gelişmesine yardım etmektedir. Fosforun günlük alınması gerekli miktarı 800 mg’dır. Magnezyum, 35 mg 100 g-1 civarlarında kestanede mevcut olup, günlük alınması gerekli doz 350 mg’dır. Kalsiyum ve potasyumun alınmasına yardımcı olur. Kemiklerin şekillenmelerinde, mineral ve karbonhidrat metabolizmasında önemli bir rol üstlenmektedir. Ayrıca, kolesterolün düzeyini de azalttığı ifade edilmektedir. Kestane meyvesinde sodyum miktarı ise 10-12 mg 100 g-1 oranındadır [11].

Lif içeriği en yüksek yemişlerden olan kestanedeki lifli madde miktarı 8-10 g 100 g-1 olarak hesaplanmıştır. Bu özelliği de kestanenin glikemik indeksi düşük miktarlarda bir meyve olmasını sağlamaktadır.

Böylelikle kan şekeri yavaş olarak yükselmiş olacaktır [12].

Kestanenin yapısını oluşturan lifli maddeler polisakkaritlerdir. Yenilebilir taze kestanede bulunan lifli maddenin önemli bir miktarı vücut tarafından sindirilmemektedir. Ancak bağırsak florasının gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bağırsağın hareketini hızlandırmakta ve de kabızlığı önlemektedir. Böylelikle zararlı maddeler uzun süreler bağırsakta beklemekten atılmakta ve kanda bulunan kolesterol seviyesinin azaltılmasına yardımcı olabilmektedirler. Bu özellikleri nedeni ile Amerikan Kalp ve Amerikan Kanseri Birlikleri kalp, kanser ve kalp, damar hastalıkları riskinin düşürülmesi için beslenme diyetlerinde kestaneyi de dikkate alınması gerektiğini önermektedirler [11].

3. KESTANE ÜRETİMİ

Dünya kestaneyi üretiminde, yıllık 60.000-65.000 ton civarı üretim miktarı ile Türkiye üçüncü sırayı almaktadır olup Dünya üretiminin %2,26'ya sahiptir (Tablo 1). Kestane üretimi yapılan ve Dünya kestaneyi üretiminde en az %0,5'lik paya sahip ülkeler, Çin, Bolivya, Türkiye, Güney Kore, İtalya, Yunanistan, Portekiz, Japonya, İspanya, Kuzey Kore, Fransa, Arnavutluk, Şili ve Bosna ve Hersek'tir [18].

Tablo 1. Dünya Kestane Üretiminde Ülkelerin Payları (%) (2018) [18].

Ülke	Kestane üretim miktarı (ton)	Kestane üretim payı (%)
Çin	1.939.719	%83
Bolivya	85.047	%3,65
Türkiye	62.904	%2,70
Güney Kore	52.764	%2,27
İtalya	52.356	%2,25
Yunanistan	36.000	%1,55
Portekiz	29.875	%1,28
Japonya	18.700	%0,80
İspanya	15.623	%0,67
Kuzey Kore	12.540	%0,54
Fransa	8.406	%0,36
Arnavutluk	6.266	%0,27
Şili	2.583	%0,11
Bosna ve Hersek	1.154	%0,05
Diğer	3.291	%0,15
Toplam	2.327.465	

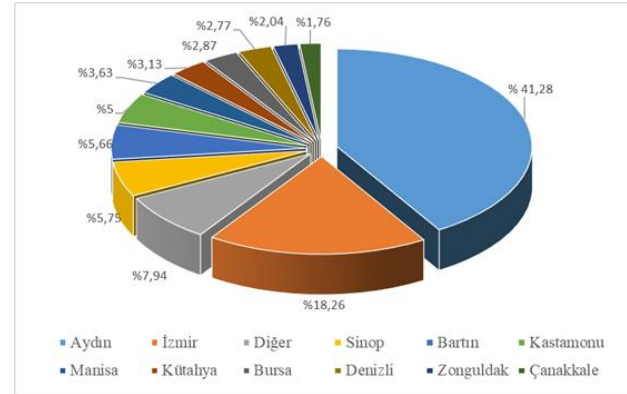
Türkiye'nin iklim ve toprak özelliklerinden dolayı kestaneyi üretimi ülke coğrafyasına dağılmış durumdadır. Son beş yıllık veriler incelendiğinde, yıllık kestaneyi üretimi 60.000-65.000 ton arasında değişmektedir [14]. Meyve kalitesi ve ağaç özellikleri yönünden ve Anadolu'da çok eski zamanlardan beri kültürünün yapılması nedeniyle pek çok kestaneyi tipi yetiştirilmektedir [15]. 1975 yılında, ülkemizde ilk kestaneyi seleksiyonu çalışmaları, Marmara Bölgesi'nde

gerçekleştirilmiştir. Karadeniz ve Ege bölgesinde de zamanla seleksiyon çalışmaları yapılmış ve kestaneyi yetiştiriciliği artmıştır. Farklı bölgelerde kestanenin çeşitli mevve özelliklerine rastlamak mümkündür [16].

Türkiye'de kestaneyi denilince kestaneyi şekeri sanayisinin yaygınlaşması, buradan iç ve dış pazara gönderilmesi nedeni ile daha çok Bursa ili ön plana çıkmıştır [17]. Fakat yıllık 20.000-26.000 ton civarı üretimin gerçekleştiği Aydın'da, Türkiye kestaneyi üretiminin %41,28'i karşılanmaktadır (Tablo 2). Bursa ili ise, 1822 ton/yıllık üretim ile ülke üretiminin sadece %2,87'sini karşılamaktadır (Şekil 1).

Tablo 2. Aydın ili kestaneyi üretim miktarları (2014-2018) [14].

Yıl	Toplu Meyveliklerin Alanı (dekar)	Üretim (ton)	Ağaç Başına Ortalama Verim (kg)	Toplam Ağaç Sayısı (adet)
2018	73.433	26.248	39	809.896
2017	70.633	24.304	36	784.247
2016	68.477	25.423	38	784.289
2015	63.970	21.215	33	733.507
2014	63.970	20.989	33	732.399



Şekil 1. İllere göre kestaneyi üretim yüzdeleri (2018) (TÜİK verileri kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır).

Aydın ili kestaneyi üretiminde, ilçeler bazında ilk üç sırayı Nazilli, Sultanhisar ve Köşk ilçeleri almaktadır [14]. Aydın'dan sonra İzmir ise yıllık 26.248 ton ile ülke geneli kestaneyi üretiminin %18,26'sını karşılamaktadır. İzmir ilinden sonra sırasıyla, Sinop, Bartın, Kastamonu ve Manisa illeri gelmektedir (Şekil 1).

4. KESTANE İHRACATI

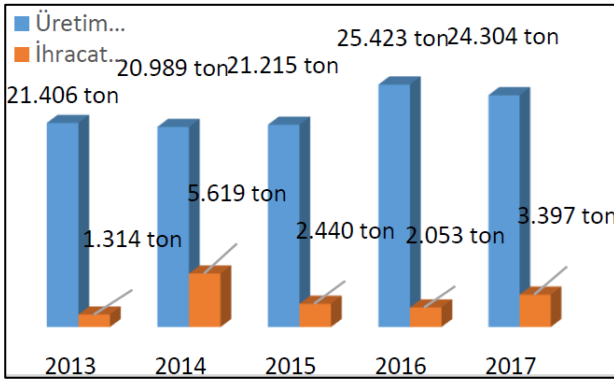
Dünya kestaneyi ihracat hacmi 2018 yılında 320 milyon ABD doları civarındadır. Ticaret hacminin büyüklüğüne göre 77.892 dolar ve dünya ticaret hacminin %24,32'lik payı ile Çin ilk sırayı almaktadır. 55.620 dolar ile İtalya ikinci, 44.345 dolar ile Portekiz üçüncü sıradadır. Türkiye ise 12.957 ton ihracat ile Çin'den sonra ikinci sırada olmasına rağmen 43.111 dolar ticaret hacmi göz önüne alındığında dördüncü sırada yer almaktadır [18].

Aydın Tarım ve Orman İl Müdürlüğünden elde edilen 2013-2017 yılları verilerine göre, Aydın'dan ihraç edilen tarım ürünleri arasında %3,10 pay ile kestaneyi altıncı

sıradadır [19]. Aydın'da tarım ürünleri %16,50 pay ile en fazla Romanya'ya ihraç edilmektedir [20]. Kestane ihraç edilen ülkeler incelendiğinde ise ilk sırayı İtalya almaktadır. İtalya'dan sonra Lübnan, Ürdün, Almanya, Suudi Arabistan ve İngiltere gelmektedir [14].

Aydın Tarım ve Orman İl Müdürlüğünden alınan verilere göre, 2013-2017 yılları arasında Aydın ilinden yaklaşık 14.825 ton kestane ihraç edilmiştir [20]. İhracat verileri miktar bakımından incelendiğinde, üretim miktarları ile orantılı olarak arttığı veya azaldığı saptanmamıştır. Yıllar arasında değişik dalgalanmalar mevcuttur (Şekil 2).

İhracatın genellikle taze kestane, kestane şekeri ve dondurulmuş kestane şeklinde olduğu saptanmıştır. Bu yıllar arasında kestanenin tamamına yakını (%99,29) taze kestane şeklinde ihraç edilmiştir. 99.546 kg (%0,67) dondurulmuş, 4.347 kg (%0,03) ise kestane şekeri olarak ihraç edildiği tespit edilmiştir [20].



Şekil 2. Aydın ilinde kestane üretim ve ihracat miktarları (ton) (2013-2017) [22,28].

5. SONUÇ

Bu çalışmada uzun süredir bilinen kestane meyvesinin; besin içeriği, biyokimyasal özellikleri, farmakolojik özellikleri, sağlığa etkileri ile Aydın ili özelinde kestane üretimi ve ticareti üzerinde durulmuştur. Kalori değeri ve besleyici değeri fazla olan kestane birçok vitamin ve mineralleri içeren, lif içeriği yüksek olan yemişlerden biridir. İçeriğindeki fenolik bileşiklerin varlığı, antioksidan ve antimikrobiyal gibi biyolojik aktivitelerden sorumlu olabilir. Dolayısıyla kestane meyvesinin, gıda işleme proseslerinde katkı maddeleri ve koruyucu maddeler ile birlikte kullanılma potansiyeli değerlendirilebilir.

Kestane düşük ham yağ içeriği ve yüksek orandaki çoklu doymamış yağ asitleri ile birlikte sağlıklı bir gıda ürünüdür. Serbest şekerler ve yüksek nişasta içeriği ayrıca kestaneyi enerji açısından değerli bir gıda ürünü haline getirir. Diğer önemli bir konu ise, kestane meyvesi gluten içermediği için, kestane unundan yapılan yeni ürünlerin çölyak hastalarına yönelik sağlıklı bir alternatif oluşturacaktır.

Yıllık ortalama 60.000-65.000 ton kestane üretim hacmi ile Dünya'da üçüncü sırada bulunan ülkemizde Aydın ili üretiminin %41,28'ini karşılayarak ilk sırada yer almaktadır. Kestane ihracat hacmine göre, Dünya

sıralamasında dördüncü olan Türkiye, 2018 yılında 12.957 ton kestane ihraç etmiştir. İhracat rakamları analiz edildiğinde ise Türkiye'nin 12.957 ton ihracat miktarı ile Çin'den sonra ikinci sırada olmasına rağmen, 43.111 dolar ticaret hacmi ile dördüncü sırada yer aldığı saptanmıştır. Dolayısıyla, Türkiye'de kestane ihracat politikalarının gözden geçirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

İl bazında ihracat verileri incelendiğinde ise Aydın Tarım İl Müdürlüğünden alınan verilere göre, Aydın ilinden yaklaşık 3.500 ton kestane ihraç edildiği ve bu miktarın Aydın ilinin üretim hacmine göre oldukça düşük seviyede olduğu görülmektedir. Kestane meyvesinin, Aydın ilinin bilinmeyen ve maddi olarak tam anlamıyla yararlanılamayan değeri olduğu düşünülmektedir. Çünkü kestane denilince ülkemizde ilk akla Bursa ili gelmektedir. Fakat Bursa ilinde Türkiye geneli kestane üretiminin sadece %2,87'si gerçekleşmektedir. Aydın ilinde kestane markalaşmasına yönelik yerel girişimlerin bulunduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, kestane bazlı ürünlerinin üretilmesine yönelik de hızlı adımların atılmasının gerektiği düşünülmektedir. Bu amaçla, üretici kooperatiflerinin kurulması ve desteklenmesinin kestane işleme fabrikalarının yaygınlaşması için ilk adım olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Villani F, Pignucci I, Benedetti S, Cherubini M. Genetic differentiation among Turkish chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations, Heredity.1991; 66(1): 131.
- [2] Kaynak Z. İnegöl kestanelerinin (*Castanea sativa* Mill.) seleksiyonu: Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu; 2013.
- [3] Kendir G, Öztürk A, Köroğlu A. *Castanea stiva mill.*(Kestane), meyve ve yaprak anatomisi. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2016; 40(2): 1-18.
- [4] Pandey PK. *Castanea sativa* Mill. - A review on its phytochemical and pharmacological profile. The Pharma Innovation Journal. 2018; 7(5), Part B, 94.
- [5] Ertan E, Seferoğlu G, Dalkılıç GG, Tekintaş FE, Seferoğlu S, Babaeren F, Dalkılıç Z. Selection of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) grown in Nazilli district, Turkey, Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 2007; 31(2): 115-123.
- [6] Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO), İstatistikler; 2016 [10.11.2019]. Erişim adresi: <http://www.fao.org/statistics/databases/en/>
- [7] Şenel R, Eltan C. Kestane eylem planı. Bursa Orman Genel Müdürlüğü; 2019. [05.11.2019]. Erişim adresi: <http://bursaobm.ogm.gov.tr/Documents/Subeler/Silvikultur/KEP.pdfLi>.
- [8] Eymir A. Bursa ilinde yetişen Osmanlı ve Sarı aşlama kestanelerinin toplam fenolik madde miktarı, fenolik kompozisyonu ve antioksidan kapasiteleri üzerine haşlama ve fırınlamanın etkisi: Yüksek

- Lisans Tezi, Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli; 2017.
- [9] Vasconcelos MC, Bennett R, Rosa E, Ferreira-Cardosa, JV. Composition of European chestnut (*Castanea sativa Mill.*) and association with health effects: fresh and processed products Journal Science Food Agriculture. 2010; 90: 1578–1589.
- [10] Candemir A. Dilimlenmiş kestanenin akışkan yatak ve mikrodalga kurutucuda kurutulması sonucunda elde edilen ürünün kalite özelliklerinin belirlenmesi: Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir; 2011.
- [11] Yurdakul E. Kahvaltılık gevrekleri zenginleştirmek amacıyla üretilen dondurarak kurutulmuş kestanenin kalite kriterlerinin değerlendirilmesi: Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir; 2008..
- [12] Mete M. Kestane unu katkısının eriştinin bazı besinsel ve kalite özelliklerine etkisinin incelenmesi: Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul; 2016.
- [13] Erdal E. Kestanelerde (*Castanea sativa Mill.*) hasat öncesi ve sonrası dönemlerde meyve kalite özelliklerinin değişimi üzerine bir araştırma: Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın; 2013.
- [14] TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Konularına göre istatistikler, 2018. [10.12.2018]. Erişim adresi: <https://web.tuik.gov.tr/classification-categories/>
- [15] Soylu A, Ufuk S. Marmara bölgesi kestanelerinin seleksiyon yoluyla ıslahı, Sonuç raporu: Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Yalova; 1994.
- [16] Ertan E, Kılınç SS. Seleksiyon ile belirlenmiş kestanenin genotiplerinin morfolojik, fenolojik ve biyokimyasal özellikleri, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2005; 2(2): 67–77.
- [17] Tarım Orman Bakanlığı, 2018 yılı faaliyet raporu, 2019. [10.08.2019]. Erişim adresi: https://www.tarimorman.gov.tr/SGB/Belgeler/Bakanl%C4%B1k_Faaliyet_Raporlar%C4%B1/2018%20FAAL%C4%B0YET%20RAPORU.pdf.
- [18] Comtrade Data Base. Uncomtrade analytcs, 2019. [05.11.2019]. Erişim adresi: <https://comtrade.un.org/labs/data-explorer/>
- [19] Yüksel N, Sürmen M. Aydın ili tarımsal ürünler ihracat raporu 2013-2017. 2. Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi. 2019; 496-508.
- [20] Aydın İli Tarım ve Orman Müdürlüğü yetkilileri, (2018).



Yatalak İnek Sendromuna Güncel Bir Bakış

Ramazan KAMAN¹, Akın KIRBAŞ^{2*}

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

²Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Yozgat, Türkiye

Ramazan KAMAN ORCID No: 0000-0001-6304-6063

Akın KIRBAŞ ORCID No: 0000-0001-9159-3240

*Sorumlu yazar: akin.kirbas@bozok.edu.tr

(Alınış: 26.04.2020, Kabul: 04.06.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Yatalak sendromu, İnek, Hipokalsemi, Myopati, Nöropati, Tedavi

Öz: Yatalak inek sendromu (YİS) sistemik hastalık bulgusu göstermeksizin hipokalsemi tedavisine rağmen 24 saatten uzun süre sternal pozisyonda yatmaya devam eden inekleri tanımlamada kullanılan bir terimdir. Çok sayıda nedeni ve bunlara göre yönetimi bulunan kompleks bir durumdur. Hipokalsemi, hipomagnezemi ve hipokalemi gibi metabolik bozukluklar veya travmaya bağlı uzun süreli yatalaklıkta sekonder olarak gelişen arka bacak kaslarının iskemik nekrozisi ve sinirlerin hasarı ile ilişkilidir. Yatalak inekler genellikle uyanıktırlar ve başka bir bozukluktan etkilenmezlerse ruminasyona devam ederler. Şiddetli şekilde uyarılsalar bile ayağa kalkma çabaları isteksizdir. İnekler yanları üzerine uzanmış ve ayaklarını uzatmış halde bulunabilirler veya göğüsleri üzerinde yatarak bacaklarını karın altına bükerek ya da gergin şekilde uzanarak yatabilirler. Yatan ineklerde kalsiyum düzeyi normal iken fosfor ve potasyum düzeylerinde azalma tespit edilebilir. Aspartat aminotransferaz ve kreatin fosfokinaz aktivitelerinde artış, proteinüri, myoglobininüri ve ketonüri görülür. Tedavide nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar kullanılabilir. Basınca bağlı bozukluklardan kaçınmak için yatalaklıkların değiştirilmesi ve ineklerin sık sık çevrilmesi sağlanmalıdır.

A Current Overview of Downer Cow Syndrome

Keywords

Cow, Downer syndrome, Hypocalcaemia, Myopathy, Neuropathy, Treatment

Abstract: Downer cow syndrome (DCS) is a term used to describe cows who continue to lie in the sternal position for more than 24 hours despite treatment of hypocalcemia without showing any signs of systemic disease. There are a large variety of causes and their management is complex. Downer cow syndrome is associated with metabolic disorders such as hypocalcaemia, hypomagnesaemia and hypokalemia, or ischemic necrosis and nerve damage of the hind limb muscles that develop in the prolonged bedridden due to trauma. The recumbency cows are usually awake and continue rumination if they are not affected by another disorder. Efforts to stand up are reluctant, even if they are warned violently. The cows can lie on their sides and stretch their feet, or lie on their breasts, lying down by bending their legs under the abdomen or lying stretched. While the calcium level is normal in the recumbent cows, a decrease in phosphorus and potassium levels can be detected. Increased aspartate aminotransferase and creatine phosphokinase activities, proteinuria, myoglobinuria and ketonuria are observed. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs can be used in the treatment. To avoid pressure-related defects, changing the bedding and turning the cows frequently.

1. GİRİŞ

Downer cow (yatalak inek) terimi 1950'li yıllardan bu yana kullanılmaktadır. Ancak halen dünyaca kabul görmüş bir tanımı bulunmamaktadır [1, 2]. Björnsell ve Holtenius [3], hipokalsemiye karşı kalsiyum tedavisi

uygulanmış ve 24 saat içerisinde kalkamayan inekleri yatalak olarak tanımlamıştır. Fenwick [4], kalsiyum uygulamasına rağmen 10 dakika içinde kalkamayan inekleri yatalak olarak tanımlamıştır. Cox [5], herhangi bir sistemik hastalık bulgusu göstermeksizin 24 saatten uzun süre sternal pozisyonda yatan inek olarak tanımlamıştır. Bazı yazarlar, yatar halde yiyip içebilen

ancak ayağa kalkamayan alert inek olarak tanımlamıştır [6]. Burton ve ark. [7] 12 saat veya daha uzun süre ayağa kalkamayan veya ayakta durmakta isteksiz olan inekleri yatalak olarak tanımlamıştır. Richter ve Götze ile Hofman ve Elamrousi kendiliğinden ayağa kalkamama olarak tarif etmelerine karşın, Jönsson ve Pehrson doğum felcine karşı iki kez tedavi yapılmasına rağmen ayağa kalkamayan hastalar olarak ve Oksanen ise özel bir güç ile ayağa kalkamayan inekler olarak tanımlamışlardır [8]. Bazı araştırmacılar, yatalak sendromunun bir hastalık olmayıp altda yatan asıl problemlerin komplikasyonu olduğunu belirtmişlerdir [9, 10]. *Downer cow*, çoğunlukla doğum sonrası dönemde hipokalsemi ve hipofosfotemi'nin bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar [11, 12]. Vakalar her ne kadar doğum öncesi dönemde de görülse de genellikle hipokalsemi tedavisi gören ve ayağa kalkamayan inekler sendrom kapsamında incelenmiştir [13]. Fakat kalsiyum ve fosfor seviyeleri normal, herhangi bir kas-iskelet hasarının veya mastitis-metritis tablosunun bulunmadığı halde yatalak olan inekler mevcut olup bu gibi durumlar teşhis ve tedavi açısından veteriner hekimlere her zaman güçlük

çıkaran bir tablodur [14]. *Downer cow* etiyolojik faktörler ve klinik bulgularına göre alert (uyanık) ve non-alert (depresif-uyanık olmayan) olmak üzere iki grupta incelenebilir. *Alert downer cow*, yeme içme faaliyetleri devam eden ve dış uyarımlara normal şekilde tepki vermesine rağmen ayağa kalkamayan ve sternal pozisyonda yatan, *non-alert downer cow* ise anormal yaşamsal faaliyetleri ve davranışları bulunan ve lateral uzanan hayvanlar olarak tanımlanabilir [6, 7, 17]. Bu derlemede, yatalak inek sendromunun etiyolojisi, epidemiyolojisi, klinik bulguları, patogenezi, laboratuvar bulguları ve tanıya yaklaşım kriterleri, tedavi planı ve korunma yöntemleri üzerine güncel bilgilerin sunulması amaçlanmıştır.

2. ETİYOLOJİ ve PATOGENEZ

Yatalaklığın oluşumunda çok sayıda nedenin olduğu belirtilmektedir [18]. Ancak yaygın nedenleri dört ana başlık altında toplanmıştır (Tablo 1) [19].

Tablo 1: Yatalak inek sendromunun yaygın etiyolojik faktörleri [19]

Travmatik	Metabolik	Nörolojik	Toksemik
Pelvis kırıkları	Hipokalsemi	Obturator sinir felci	Akut <i>E.coli</i> mastiti
Sakroiliak çıkıklar	Hipofosfotemi	Siyatik sinir felci	Akut metritis
Gastrocnemic tendo hasarları	Hipomagnezemi	Periferik sinir felci	Abomazumun sağa deplasmanı
Güç doğum	Karaciğer yağlanması	Bovine spongioform encephalitis	Volvulus
Uterus yaralanma ve kanamaları	Rumen asidozu	Botilismus	Peritonitis
		Tetanoz	Yüksek ateş

Birçok etiyolojik faktör, ineklerde yatalıklık ile ilişkilendirilmektedir. Ancak bunlardan bazıları zayıf olarak, bazıları ise kuvvetli etken olarak tanımlanabilir. Bunlar; doğum sonrası felç kompleksi, hipofosfotemi, hipomagnezemi, hipokalsemi, hiper veya hipo adrenokortikal aktiviteler, serebral ödem, albuminüri, renal hastalıklar, karaciğer hastalıkları ve kas dejenerasyonları ile fiziksel yaralanmalardır [20]. Bazı araştırmacılar, *downer cow* sendromunun etiyolojisinin net olmadığını ve süt hummasının veya başka bir hastalığın komplikasyonu olduğunu ifade etmişlerdir [9, 15]. Beslenmenin yatalıklığın etiyolojisinde etkisinin olduğu ve fazla sodyum (Na) tüketiminin, yetersiz kalsiyum (Ca) alımının ve genellikle yüksek enerji ile beslenmenin *downer cow* oluşumunda etkili olduğu öne sürülmüştür. Bununla birlikte, yüksek proteinli rasyonlar, yetersiz gıda alımı, vitamin, iz element ve mineral yetersizliği gibi beslenme hataları da etkili olmaktadır [10, 21]. Özellikle güç doğumlar esnasında pelvik kanalda buzağının ilerlemesi esnasında oluşan basınç ile siyatik ve obturator sinirlerin yaralanması sonucu yatalıklık oluşabilir. Bunun akabinde yatalıklığa bağlı olarak radyal ve peroneal sinirlerde de yaralanmalar meydana gelebilir [22]. Poulton ve ark. [23] bir günden uzun süre yatan hayvanlarda oluşan sekonder hasarlardan dolayı yatalıklığın ana sebebinin

tanımlanamadığını ifade etmişlerdir. İneklerin uzun süre aynı pozisyonda sert zemin üzerinde yatmaları sonucu *Mm. adductore*, *Mm.fibularis tertius* gibi kaslarda yırtıklar oluşması, dejenerasyonları ve nekrozları yatalıklığın asıl sebebi olabileceği gibi yatalıklık durumunda oluşacak basınç sonucu diğer kas ve dokularda oluşan hasarın da yatalıklığın etiyolojisinde etkili olacağı belirtilmektedir. Özellikle 6-12 saat sert zeminde yatan ineklerin arka bacaklarının yüzeysel ve derin dokularında hasar oluşmasının her zaman mümkün olduğu belirtilmiştir [12]. Pehrson, yatalıklığın gelişiminin değişken olabileceğini ve yatalıklığın etiyolojisinde %70 bacak kas ve sinirlerinde oluşan hasarın, %10 myokarditis, %8 hepatitis, %5 nüksedici hipokalsemi ve %7 bilinmeyen sebeplerin rol oynadığını belirtmiştir [24].

Yatalak inek sendromu yüksek süt verimli hayvanlarda yüksek oranda doğum sonrası ilk 2-3 gün içinde ve sıklıkla hipokalsemi ile birlikte görülür. Bu hipoteze göre, hipokalsemi veya iskemiden dolayı uzayan yatalıklık kas hücrelerinin membran geçirgenliğinin artmasına ve potasyumun hücre dışına çıkmasına bağlı olarak myotoni oluşmasına neden olmaktadır. Bu durum yatalıklığın temelini oluşturmaktadır [25]. Yatalıklık en

sık olarak doğum sonrası ilk bir gün içinde meydana gelir ve sıklıkla hipokalsemi veya doğumla ilişkili komplikasyonlar ile sonuçlanır [5, 12, 22, 26, 27]. Bir çalışmada, 12 Holştayn inek sürüsünde, doğum sonrası 1 ay içinde yatalıklığın risk faktörleri değerlendirilmiş, tüm risk faktörleri içinde %5,6 klinik hipokalsemi, %4,9 ölü doğum, %5,7 güç doğum ve %6,1 retensiyon sekondinarum olarak belirtilmiştir. Bunların dışında paraliz, septik metrit ve mastitisinde yatalıklığın oluşumunda ana etken olabileceği ifade edilmiştir [26]. Başka bir çalışmada ise ayağa kalkamamanın 3 ana sebebi tespit edilmeye çalışılmış ve %19 hipokalsemi, %22 doğuma bağlı yaralanmalar ve %15 kayma-düşmeye bağlı yaralanmalar olarak belirlenmiştir [28].

Cox, yatalıklığın muhtemel nedenini açıklamak için basınca bağlı hasar ve kompartman sendromu olarak ele alınmasını önermiştir. Kompartman sendromu osteofasiyal kompartman içinde oluşan basınç hasarını ifade etmektedir. Osteofasiyal kompartman, aynı hareketi sergileyen, aynı sinir tarafından uyarılan ve kalın bir fasiya ile sarılmış olan kas gurubudur. Bilinen en gelişmiş osteofasiyal kompartman olarak eksremitelelerin proksimal alanlarındaki kas grupları tanımlanmıştır (*Mm. biceps femoris*, *Mm. semitendinosus* ve *semimembranosus*). Artan basınç, osteofasiyal kompartman içinde ya eksternal ya da internal basınç artışıyla veya her ikisiyle de sonuçlanabilir. Eksternal basınç damar daralmasına, iskemi, dolaşım yetmezliği ve basınç alanında ödeme bağlı şişmelere yol açar ki bu da internal basınç artışına sebep olur. Kas hasarlarının sistemik etkisi, renal hasarlar, kardiyak aritmi ve artan kreatin kinaz aktivitesi insan hekimliğinde tanımlanan Crush sendromu ile açıklanmıştır [1,2,22].

Yüksek süt verimli ineklerde önemli bir yer tutan metabolik hastalıkların oluşumunda stres, vitamin, iz element, protein ve enerji yetersizliği gibi faktörlerle beraber, özellikle Ca, P, Mg ve K iyonlarının yetersizliği ve bunlar arasındaki dengesizlikler periparturient ve postparturient parezislere neden olmaktadır [25,29-32]. İneklerde periparturient dönemde oluşabilecek hipofosfotemi, hipomagnezemi ve hipokalsemi gibi metabolik durumlar kas ve sinir fonksiyonlarına olumsuz etkileri nedeniyle ineklerin hareket etme ve ayağa kalkma fonksiyonlarını ortadan kaldırılabirler. Bu minerallerin kan konsantrasyonlarındaki az miktardaki değişimler ise; gıda alımında azalma, verim kaybı ile diğer metabolik ve enfeksiyöz hastalıkların oluşmasına zemin hazırlamaktadır [25]. Hipomagnezemi, Mg'un uzun süre düşük seviyede seyretmesi ve hipokalsemiyle birlikte bulunması yatalak inek sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Hipomagnezemiye, yemlerdeki Mg noksanlığı, rumen ve bağırsaklardan yeteri kadar Mg emilememesi ve intraselüler Mg değişimleri gibi faktörler neden olmaktadır [33,34]. Hipokalsemi; hipokalsemiye bağlı uzun süre yatalıklık durumunda gelişen iskemi ve kas liflerinde meydana gelen hücre membran permeabilitesindeki artışa bağlı olarak gelişerek hücreden K kaybına yol açar. Bunun sonucunda oluşan myotoni yatalıklığa sebep olabilir. Yatalıklık tanısı konulan ineklerin, kan K seviyelerinin düşük olması bu durumu desteklemektedir [34].

Yatalak inek sendromunun gelişiminde enfeksiyöz etkenlerin de rol oynadığı belirtilmektedir. Nörolojik bozukluklara yol açan bazı viral, bakteriyel ve paraziter enfeksiyonların ineklerde yatalıklığa neden olabileceği belirtilmiştir. Bovin viral diyare (BVD) ile yatalak inek sendromu (YİS) arasında bir ilişki olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, yatalak olarak tespit edilen 2-7 yaş aralığındaki 386 ineğin kan serumu ve beyin dokularında anlamlı sonuçlar elde edilerek, yatalıklığın etiolojisinde BVD gibi viral bir etkenin olabileceğini vurgulamışlardır [35]. Rullf ve ark. [36] 52 yatalak inek üzerinde yaptıkları çalışmada, yatalak ineklerde *C. botulinum* A, B, E, C ve D toksinleri antikor seviyelerini anlamlı derecede yüksek tespit ederek Botulismus'un yatalak sendromunda predispoze bir faktör olabileceğini belirtmişlerdir.

Karaciğer yağlanması *downer cow* oluşumunda önemli bir risk faktörüdür [37]. Yüksek süt verimli inekler erken laktasyon döneminde negatif enerji dengesi içerisinde ve enerji gereksinimleri rasyonla aldıklarından daha fazladır [38]. Karaciğer metabolizmada merkezi bir rol oynamaktadır ve özellikle yüksek süt verimli ineklerde doğum öncesinde veya sonrasında karaciğer yağlanması oluşabilir [39,40].

Julien ve ark. [21] rasyondaki fosfor ve protein durumunun *downer cow* sendromu ile ilgisini inceledikleri çalışmalarında, kuru dönem başında olan 53 baş ineği 4 gruba ayırıp bütün hayvanları mısır silajı ve konsantre yem ile beslemişlerdir. İlk iki gruba %8 HP içeren rasyon verirken, diğer iki gruba %15 HP içeren rasyon vermişlerdir. Bununla birlikte rasyonları 1. ve 3. gruplara toplam kuru maddenin %0,65'i Ca ve %0,29'u P içeren, 2. gruba %0,70 Ca ve P içeren, 4. gruba ise %0,66 Ca, %0,65 P içerecek şekilde düzenlemişlerdir. Yüksek protein alan 3 ve 4. gruplarda yaklaşık %69,2 oranında doğum sonrası metabolik bozukluklar şekillenmiş; bunlardan 8 tanesine *downer cow* teşhisi konulmuş, 6 tanesi tedaviye yanıt verip düzelenken iki tanesi tedavi esnasında ölmüştür. Düşük proteinle beslenen gruplarda ise metabolik bozukluk %7,14 olarak tespit edilmiş ve hiç birisinin *downer cow* olmadığı belirtilmiştir. Bu nedenle rasyondaki protein oranının doğum sonrası metabolik hastalık görülme ihtimalini arttırabileceği, rasyondaki mineral madde düzeyindeki değişimlerden ziyade protein oranının *downer cow* oluşumunda etkili olacağı değerlendirilmiştir. İntravenöz fosfor bileşikleriyle tedavi edilen bazı yatalak hayvanlardan olumlu yanıt alınması yatalıklığın yaygın bir sebebinin de fosfor eksikliği olabileceğini göstermiştir. Hipokalsemi sıklıkla hipofosfotemi ile ilişkilendirilmiş ve bazı yatalak hayvanlarda serum ve kas K seviyeleri düşük tespit edilmiştir [41].

3. EPİDEMİYOLOJİ

Downer cow sendromuna ilişkin risk faktörleri ve yaş ile olan ilişkisine dair veriler sınırlıdır. Fakat yaşlı hayvanlarda süt humması ve düvelerde güç doğum en ciddi risk faktörleridir [42]. YİS'in insidansını tespit etmek, hastalığın tanımlanmasının yorumuna açık olduğundan dolayı çok zordur [26]. Bazı kaynaklarda

tüm süt humması vakalarının %3,8 ile %28,2 oranlarında alert downer cow olarak sonuçlandırıldığı ve bunların mortalite oranlarının %20-67 arasında olduğu belirtilmektedir [6]. Cox ve ark. bir anket çalışmasında *downer cow* insidansını 21,4/1000 baş inek olarak tespit etmiş ve bunlardan %33'ünün düzeldiğini, %23'ünün kesimhaneye gittiği ve %44'ünde öldüğünü, bu vakaların yaklaşık %58'inin doğum sonrası ilk 24 saat içinde ve %37'sinin laktasyonun ilk 100 gününde şekillendiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmaya göre İsviçre Esmeri ırkı 15,7/1000 baş inek, Holstein ırkı 22,2/1000 baş inek, Jersey ırkı 17,9/1000 baş inek ve Guernsey ırkı 21,8/1000 baş inek olarak tespit edilerek ırkların yatalaklığa karşı predispozisyonu hakkında bilgi vermiştir. Ayrıca, yatalaklığın mevsim olarak en çok soğuk kış ayları olan Aralık, Ocak ve Şubat aylarında en az ise Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında meydana geldiği tespit edilmiştir [43]. YİS yüksek oranda doğum sonrası ilk 2-3 gün içinde görülür. Koliform mastitis ve enerji dengesi bozukluklarına bağlı olarak da inekler yatma eğilimi gösterebilir. Hastalık hipokalseminin bir komplikasyonu olarak yüksek süt verimli ve ekonomik olarak değerli olan ineklerde daha yüksek oranlarda görülmektedir [10]. Correa ve ark. [26] 2705 sağmal hayvan üzerinde yaptıkları bir çalışmada, kümülatif postpartum insidansını %1,1 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, klinik hipokalsemi ve ölü doğumun *downer cow* riskini 5 kat arttırdığını ifade etmişlerdir. Periparturient hipokalsemi vakalarının %3,8-28'inin yatalaklık tablosu oluşturduğu, vaka ölüm oranının ise %20-67 arasında olduğu rapor edilmiştir [11,17,34]. Vakaların çoğunlukla ineklerin süt verimlerinin yüksek olduğu 4-6 yaşlarında, doğum öncesi 2 ile doğum sonrası 10. günler arasında daha sık görüldüğü bildirilmektedir. İri yapılı ve yüksek kondisyonlu inekler ile geçmişte hipokalsemi tedavisi görmüş inekler risk grubundadır. Bakım ve besleme hataları, uygun olmayan işçilik, kaygan zeminler, periparturient dönem yönetimi, mevsim ve çevresel faktörler, işletme ve yönetime bağlı risk faktörleri olarak sayılabileceği gibi, hipokalsemi tedavisinin geç ve yetersiz yapılması ve uzun süre hayvanın sert zeminde aynı yönde yatması ineğe bağlı temel risk faktörleri olarak sıralanabilir [10].

4. KLİNİK BULGULAR

Doğum sonrası inekler hipokalsemi veya hipomagnezemi gibi çözülmemiş bir metabolik rahatsızlıktan dolayı lateral uzanmış halde bulunabilir. Bu durumdaki inekler donuk, isteksiz ve neşesiz bir görüntüye sahiptirler. İkinci önemli bir ihtimal ise toksemiye bağlı depresyon, genital bölge veya memeye bağlı sorunlardır [16]. Klinik değerlendirmede amaç, *downer cow* sendromunun derecesini ve yatalaklığın asıl sebebinin tanımlamak üzerine olmalıdır. Fakat yatan ineklerde tüm vücudu muayene etmek mümkün olmayabilir [44].

Yatalak sendromlu inekler genellikle uyanıktır ve artan rahatsızlığın verdiği ıstıraptan dolayı çoğunlukla ruminasyona devam edemezler. Ayağa kalkma çabaları genellikle isteksiz ve zorlayıcıdır. Ancak her ne kadar ayağa kalmaya zorlansa da bunu başaramazlar.

Genellikle insanların bulunduğu ortamlarda cansız ve tepkisiz dururken yalnız kaldıkları zaman ayağa kalkmak için çok fazla efor sarf ederler ancak yine de başaramazlar. İneklerin çoğu sürünme çabaları gösterirler. Buldukları padok içerisinde veya önlerindeki alan boyunca ayağa kalmak için sürünerek ilerlerler [41]. İlk bakışta yatalak sendromunun klinik belirtileri hipokalsemi ile benzerlik gösterir. Fakat bu hayvanlar uygun hipokalsemi tedavisine rağmen ayağa kalkamazlar [13]. Bazı ineklerde lateral pozisyonda yatma, ekspirasyonda inleme ve kan izleri taşıyan mukoid bir dışkıya sahip oldukları gözlenmiştir [4]. YİS bağımsız oluşabildiği gibi, hipokalsemi tedavisinden sonraki belirgin düzelmelerden sonra da gelişebilir. Hipokalsemili ineklerin yaklaşık %30'u tedaviyi takiben 24 saat içerisinde ayağa kalkamazlar. Hipokalseminin bu formu ile iki kalsiyum uygulamasına rağmen YİS'li inekler ayağa kalkamazlar. Bazı olgularda kalsiyum uygulamasını müteakip taşikardi ve aritmi meydana gelerek ölüm şekillenebilir [12].

Alert (uyanık) form; vücut sıcaklığı, kalp frekansı, ürinyasyon ve defekasyon normal iken iştahın azalabileceği, kalp frekansının bazen yükselebileceği ve kas hasarına bağlı olarak idrar renginin değişebileceği ve kahverenginde olabileceği bildirilmektedir. Bu formdaki hayvanlar özellikle ön ayakları ile ayağa kalkmaya çabalarlar [12,26,45-47]. Bazı durumlarda abdominal organların diyaframa yapacağı basınçtan dolayı solunum güçlüğü görülebilir [16].

Non alert (depresif) form; iştahsızlık, dehidrasyon, endotoksemi, hiperestezi, tetani ve kalkma çabalarının olmamasıyla beraber lateral pozisyonda yatma hali görülür [16,46]. Yatalak ineklerden bazıları dört ayağını gergin şekilde uzatıp lateral pozisyonda yatarken bazıları göğüs üzerinde durarak arka ayaklarını uzatabilirler. İnekler ayağa kalkmayı denedikleri zaman çok zorlanabilirler ve bu durumda topuk eklemlerinde veya arka bacak eklemlerinde ciddi hasarlar meydana gelebilir. Bazen inekler arka bacaklarını toplayarak köpek gibi oturabilirler fakat bu durumda ayağa kalkmaya çalışmayacaklardır. Genellikle arka bacaklarda normal sinirsel iletim devam etmektedir ve arka bacaklara yapılacak uyarılara yanıt verebilirler [41].

Eğer yatalaklık uzamış veya güç doğumdan dolayı şekillenmişse genellikle vulva aşırı şekilde şişmiştir ve bol miktarda akıntı oluşacaktır [41]. Vaginal muayene her doğum sonrası yapılmak zorundadır çünkü yatalaklık bütünlüğü bozulmuş bir buzağıdan dolayı gelişen enfeksiyon veya hasardan dolayı oluşmuş olabilir. Metritise bağlı toksemi yatalaklığa neden olabilir. Ayrıca, rektal palpasyon veya vaginal muayene sonucu uterus involusyonun postpartum güne uygun olup olmadığı, uterus içeriğinde sıvı birikimi olup olmadığı ve uterus tonositesi kontrol edilebilir [16]. Bacak eklemlerinin hiperfleksiyonu oluşursa peroneal sinir hasarı ihtimali yüksektir. Bu durumda bacaklar ineklerin iki yanından öne doğru uzanır, hatta dirseklere kadar gelebilir. Bu duruma bağlı olarak medial kaslarda basınç

artışı nedeniyle şiddetli iskemik nekrozlar ve eklemelerde rahatsızlıklar ortaya çıkar [12].

Yatalak hastalara klinik yaklaşımda; sistemik başka bir hastalığın olma ihtimaline karşın ateş, nabız, solunum muayeneleri, rektal ve vaginal muayeneler, meme, pelvis, uterus ve bacaklar özenle muayene edilmelidir. Yeni doğum yapmış ineklerde olma ihtimali yüksek olan metritis, mastitis, toksemi veya gastrointestinal hastalıklar, dehidrasyon veya şok oluşturabilen akut septik peritonit ve aşırı karbonhidrat tüketimine bağlı hastalıklar yönünden muayene edilerek primer hastalık var ise tespit edilmelidir. Travmaya bağlı oluşabilecek koksafemoral eklem çıkıkları ve kolumna vertebralis kontrol edilmelidir [10].

5. LABORATUVAR BULGULARI

Laboratuvar testleri tüm şartlar sağlandığı zaman yatalıklığın sebebini tespit etmek için uygun olabilir. Ancak bu her zaman muhtemel ve mümkün olmayabilir [6]. *Downer cow* olarak rapor edilen bazı çalışmalarda serum Ca, P ve bununla birlikte Mg, K ve glukoz seviyelerinin azaldığı, bazılarında ise serum Ca, P, Mg ve glukoz konsantrasyonlarının hematolojik parametrelerin fizyolojik sınırlar içerisinde olduğu rapor edilmiştir [15, 49].

Yatalıklığın başlangıcından 18-24 saat sonra serum kreatin fosfokinaz (CK) ve aspartat amino transferaz (AST) enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir. Bu artış yatalak gün sayısına paralel olarak artış göstermeye devam etmektedir. CK aktivitesindeki artışın basınca bağlı kas hasarı olduğu muhtemeldir [15]. AST seviyesindeki artışın karaciğer hasarına bağlı olarak mı yoksa kas hasarına bağlı olarak mı olduğunu anlamak kolay değildir. Bunun için CK seviyesinin AST seviyesi ile birlikte artması kas hasarı için önemlidir [50]. Yapılan bir çalışmaya göre, yatalak ineklerde serum AST, laktat dehidrojenaz (LDH) ve CK enzim aktivitelerinde yüksek artış gözlenirken diğer biyokimyasal parametrelerde değişim saptanmamıştır [49].

Biyokimyasal analizler *downer cow*'da kas hasarını veya basınca bağlı hasarları değerlendirmek için kullanılabilir, ancak kesin veri sağlamaz [2]. Cox ve ark. [51] tarafından yapılan deneysel bir çalışmada CK seviyesinin yatalak grup ile yatalak olmayan grup arasında ilk 24 saat içerisinde önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ancak 48 ve 96. saatlerde yapılan ölçümlerde önemli derecede bir fark olduğunu bildirmişlerdir. Blood ve ark. [15]'da Ca, P, Mg ve glukoz seviyelerini yatalak ineklerde normal fizyolojik sınırlar içinde bildirmişlerdir. Clark ve ark. [52] Yeni Zelanda'da 433 yatalak inekte yaptıkları çalışmada, yatalıklığın ilk 7 gününde CK düzeyindeki değişimleri değerlendirmişler ve buna göre 12. saatte CK seviyesini normalden 33 kat, 1.günde 50 kat, 3. günde 38 kat, 5. günde 23 kat ve 7. günde 10 kat fazla olarak belirleyerek kritik seviyeyi aşan hayvanların hayatta kalma oranını %5'ten az olarak bildirmişlerdir [52]. Aynı çalışmada yatalıklık günlerine göre serum AST

seviyeleri belirlenmiş, ancak CK tespitindeki gibi günlere göre bir kritik değer tespit edilememiştir. Ancak 890 U/L'nin üzerinde tespit edilen değerlere sahip hayvanların yaşama şansının %5'ten az olduğu belirtilmiştir [52]. Ayrıca bu çalışmada 267 yatalak inekte, serum üre konsantrasyonları 25 mmol/l'nin üzerinde belirlenen 13 hayvandan hiçbiri kurtarılamazken serum üre konsantrasyonları 12,3 ile 25 mmol/l arasında belirlenen 37 hayvandan sadece 5 tanesinde iyileşme gözlenmiştir [52].

İz element seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada Fe ve Cu seviyelerinin sağlıklı hayvanlara göre yatalak ineklerde daha düşük olduğu tespit edilirken Mn ve Co seviyelerinde ise herhangi bir fark bulunamamıştır [49].

Kalsiyum, Mg, K ve P düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Güzelbekteş ve ark. [48] 5 yatalak inek üzerinde yaptıkları çalışmada Mg ve K düzeylerinde önemli bir azalma tespit ederken Ca ve P düzeylerinde herhangi bir farklılık tespit edememişlerdir. Onmaz ve ark. [49] ise 20 yatalak inek üzerinde yaptıkları çalışmada Ca, Mg ve P oranlarını normal değerler içinde tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise Ca, P ve K seviyeleri önemli ölçüde düşük bulunmuştur [53].

Oikawa ve ark. [31] tarafından karaciğer yağlanması durumunda oluşacak yatalak sendromunda apolipoprotein B-100 ve A-1'in seviyeleri araştırılmış, toplam 55 hayvandan oluşan çalışma grubu 17 süt humması, 13 süt humması ile beraber ketozis, 12 downer cow syndrome ve 13 downer cow ile birlikte ketozis olarak ayrılmıştır. ApoB-100 ve ApoA-1 konsantrasyonlarının her dört grupta da azaldığı tespit edilmiş olup bu parametrelerin ayağa kalkamayan ineklerde yatalıklığın asıl sebebinin altında karaciğer yağlanmasının olduğu kanaatine varılmıştır.

Fenwick ve ark. [61] hematolojik parametrelerde WBC artışının haricinde herhangi bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Onmaz ve ark. [49] ise hemoglobin, MCV ve RBC seviyelerinin azaldığını WBC seviyesinin ise arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca WBC seviyesindeki artışın sebebi bacaklarda artan kas hasarına ve dekubitis yaraları ile doku nekrozunun sonucu olarak oluşan yangıya karşı organizmanın savunma sisteminin yanıtı olarak açıklanmıştır [49].

6. TANI

Tanı için ana kriter ayağa kalkamama olsa da altında yatan asıl sebebin bulunması gerekir. Klinik bulgular ve anamnez bilgilerine göre teşhis konulabilir. Ancak yatalıklık süresi uzadıkça primer ve sekonder hastalıkların ayırımı yapmak zordur [8, 54]. Anamnez, klinik bulgular ve laboratuvar bulguları ile tanı konulabilir. Doğum sonrası kalsiyum uygulamasına rağmen ayağa kalkmayan hayvanlarda ilk olarak *downer cow* akla gelir [8].

Klinik olarak tanı süreci yatalıklığa sebep olacak çeşitli sebepler ile birlikte yatalıklığa bağlı olarak oluşabilecek

hasarlar tespit edildikten sonra devam etmelidir. Manuel ve rektal muayene ile pelvis ve rektumda olabilecek yumuşak doku hasarı ile krepatasyona göre pelvik veya femoral kırıklar tespit edilebilir. Ayrıca rektal palpasyon ile pelvik lenf nodüllerinde veya uterus'ta olabilecek lenfosarkomlar palpe edilebilir [1].

Doğum sonrası hipokalsemi teşhisiyle 24 saat arayla 2 kez kalsiyum uygulanmasına müteakip hipokalsemi belirtilerinin kaybolması, iştah ve genel durumun düzelmesine rağmen hayvanların ayağa kalkmaması *downer cow* sendromu olarak değerlendirilir [8].

Laboratuvar muayeneleri genellikle çok kullanışlı değildir. CK ölçümleri yatalaklığın primer sebebini tespit etmekten ziyade kas hasarının derecesini değerlendirmek için kullanılabilir. Aynı şekilde idrar myogloblin ölçümleri de faydalı olacaktır [1, 41]. Süt humması diğer metabolik hastalıklarla komplike olduğunda tanı daha zorlaşır. Biyokimyasal muayenelerin yapılma imkanının olmadığı durumlarda deneysel olarak Ca, Mg, P ve kortikosteroid uygulanarak deneysel tanı yoluna gidilebilir [41].

Yapılan bir araştırmada tanı aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde sınıflandırılarak incelenmiştir [23].

Tablo 2: Yatalak inek sendromunda tanı planı [23]

Tanı	
Yatalaklığın primer sebepleri	Süt Humması Protein-enerji yetersizliği Doğum Felci Arka ekstremitte hasarları Diğer
Travmatik hasarlar	
Nöropatiler	Siyatik sinir felci Femoral sinir felci Obturator sinir felci Brachial/Radial sinir felci
Compartman sendromu	
Given up (umutsuz vaka)	
Sekunder hasarlar	

7. PROGNOZ

Sürünme eğiliminde bulunan hayvanların prognozu iyidir. Eğer hayvan kaldırılır ve arka bacaklarda kuvvet olmadığı gözlenirse prognoz konusunda tedbirli olunmalıdır. Günlük gözlem ilave bilgiler sunabilir. Yatalak hayvanın kalkması hayvanın kendisine bağlı olduğu kadar yetenekli ve istekli aynı zamanda becerikli bir bakıcıyla iyi bakım koşullarına da bağlıdır [1].

Yatalak ineklerde çok çeşitli primer sebepler bulunması ve sekonder kas ve sinir hasarlarının yüksek oranda olması prognoz konusunda çok değişkenlik sağlar. Anamnez ve dikkatli yapılan fiziksel muayene başarı konusunda çok yardımcı olacaktır [61]. Yatalaklığın primer sebebi olabilecek hipokalsemi ve ketozis gibi metabolik bozukluklar uygun şekilde tedavi edildikten sonra kritik olan prognoz kararı verilmelidir [28]. Bir çalışmada 84 hipokalsemik yatalak inek ilk 6 saat

içerisinde tedavi edildikten sonra 83 tanesi ayağa kalkmıştır [62]. Stull ve ark. [28] yatalaklığın sekonder komplikasyonlarının oluşması için kritik süreyi 6 saat olarak belirtmişlerdir. Çiftçiler düzeyinde yapılan bir anket çalışmasına göre, katılımcıların yaklaşık yarısı yatalaklıktan dönen ineklerin ilk 6 saat içerisinde ayağa kalktıklarını ifade etmişlerdir. Bu yüzden 6 saatten uzun süre yatalak kalan ineklerin prognozu zayıf olarak değerlendirilmiştir. Bazı fiziksel muayene bulguları ve kesin tanı konulan durumlar prognoz zayıf olduğuna işaret eder. Kırıklar, kalça eklemi çıkıkları, vertebrada oluşan apse veya neoplaziler, sindirim sistemine ait operatif müdahale ile tedavi edilemeyecek durumlar ve gangrenli mastit durumları her ne kadar iyi bakım şartları oluşturulsa veya uygun tedavi protokolleri uygulansa dahi prognozu olumsuz olarak düşünülmelidir. Aynı şekilde sertleşmiş, şişmiş veya hissiyatı azalmış arka bacakların da prognozu zayıftır [62].

8. TEDAVİ

Yatalaklığın en etkili yönetimi ve tedavisi üzerine kayda değer ölçüde çok az bilgi bulunmakla beraber kaliteli bakım şartlarının oluşturulmasının iyileşme üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmektedir [20]. Eğer yatalaklık hipokalsemi, hipomagnezemi, mastitis ve metritis gibi spesifik bir hastalıktan kaynaklanıyorsa vakit kaybetmeden asıl hastalığın tedavisi yapılmalıdır [41]. Yatalak hayvanlar genellikle hipokalsemiktir. Eğer hipokalsemik inekler kalsiyum uygulamasına yanıt vermezlerse ve laboratuvar tahlili yapmak mümkün değilse ek olarak K, P ve Mg uygulanabilir. Ancak kan biyokimya göstergeleri *downer cow* tedavisinin önemli bir parçasıdır [16].

Huxley ve ark. [54] yatalak ineklerin tedavisinde non-steroid antiinflamatuvar ilaçların (NSAI) kullanımını önermişler ve bu amaçla meloksikam, tolfenamik asit, ketoprofen ve fluniksın meglumin kullanılabilirliğini belirtmişlerdir. Başka bir araştırmada ise özellikle kas hasarı veya sinir hasarı durumlarında NSAI ilaçların endike olduğu ifade edilerek sekonder nöropati ve myopati durumlarında da kullanılabilirliği belirtilmiştir [56].

Myogloblinüri varsa sıvı tedavisi yapılmalıdır. Hiperkalemi ve asidozise uygun solüsyonlar veya diğer dengeli elektrolit solüsyon uygulamaları yapılabilir. Parturient parezis durumlarında genellikle bir doz kalsiyum tuzlarının uygulanmasına olumlu yanıt alınabilir [26]. Ancak buna rağmen parturient parezisli ineklerin yaklaşık %15'i kalsiyum uygulamasına yanıt vermez [57].

Tedavi yönetiminde, yatalaklık süresince oluşabilecek sekonder zararların önüne geçmek önemli bir husustur [58]. Bu amaçla yapılacak en önemli üç husus, daima ulaşabileceği temiz su ve kaliteli yem, düzenli olarak döndürme ve ayakta durması için kaldırma ile ayağını yere sağlam basabileceği kalın yumuşak bir altlık oluşturulmasıdır [55]. Enerji ve fibrin yönünden yeterli miktarda yemin ve temiz suyun hayvanın her zaman

kolayca ulaşabileceği yerde, diğer ineklerden uzak olarak bulunması önemlidir [20]. Belloli ve ark. [57] ise önemli bakım koşulları olarak hastaların küçük bir padokta hareketinin kısıtlanması, yatış pozisyonlarının sık sık değiştirilmesi ve her 2 veya 4 saatte bir ayağa kaldırılması olarak belirtmiştir. Merada ve/veya toprakta bulunan hayvanların daha rahat düzelebildikleri görülmüştür. Hayvanların mümkün olduğunca sternal pozisyonda tutulması sağlanmalıdır [10]. Yatalak inekler mastitis riskine karşı 12 saatte bir günde iki kez sağlanmalıdır [44].

Fizyoterapi sinir hasarlarının iyileşmesine yardımcı olabilir [56]. Fizyoterapi venöz dolaşımı stimüle ederek ve kas perfüzyonunu arttırarak iskemik myonekrozu sınırlayabilir [44]. Bu amaçla çeşitli uygulamalar yapılabilir. Özellikle arka bacaklara gerdirerek masaj yapmak, manuel olarak ekstensiyon ve fleksiyon hareketleri yaptırılarak hayvan ayağa kalkmaya cesaretlendirilebilir [59]. Dar bir alana sıkıştırıp hareket alanı kısıtlanarak özellikle obturator paretis/paralizi durumunda bacağın normal pozisyonda durması sağlanabilir [44]. Bununla birlikte topuk eklemi hizasından veya tarsal eklem üzerinden köstekle veya ipele bağlanarak bacakların adduksiyonu engellenebilir [59].

Atel uygulamaları veya bandajlar bazı nöropatilerde özellikle siyatik ve peroneal felç durumunda topuk eklemine veya parmakları kaplayacak şekilde uygulanarak tedaviye yardımcı olabilir [56, 59]. Kalça kaldırıcı veya kalça kepeci bir metal bar üzerine uçları halkalı ve bar üzerinde hareket edecek şekilde tasarlanmıştır. Bu alet her iki tuber koksaya geçirilip halkalar kavuşturularak bir kaldıraç yardımıyla ineğin arka kısmının kaldırılmasına olanak sağlar. Yapılan bir anket çalışmasında çiftçilerin %75 bu yönetimi denediklerini, %71 ise kullanışlı bulduklarını ifade etmişlerdir [43]. Kalça kaldırıcının küçük olması, kullanımının kolay olması ve arka bacakları desteklemesi gibi avantajları varken, hayvan üzerinde sabitlenmek zorunda olması gibi dezavantajı vardır. Alet küçük bir alanda yüksek basınç uygulamaktadır. Eğer fazla sıkılırsa kas dokusuna ve tuber koksanın kemik dokusuna zarar verebilir. Eğer gereğinden az sıkılırsa da hayvan biraz kaldırıldıktan sonra tespit edildiği yerden çıkarak birden düşmesine ve ciddi zarar görmesine sebep olabilir [2]. Şişme hava yastığı, şişme balon veya Cow Jack gibi farklı isimlerle anılan kaldırma yöntemleri aynı prensiple hayvanı ayakta tutmak veya kaldırmak için kullanılır. Bu yöntem büyük bir silindir şeklinde şişirilebilen materyalin yatan hayvanın altına konulup şişirilmesiyle çalışır. Şişme silindirin çok yumuşak olması ve herhangi bir yumuşak dokuya basınca bağlı olarak zarar vermemesi gibi avantajı varken, yastığın yüksek oranda abdomeni kapsaması ve basınçtan dolayı iç organlara ve diyaframa baskı yaparak solunum üzerine negatif etkisinin olması gibi dezavantajı vardır [1]. Hem kalça kaldırıcı hem de şişirilebilir yataklar benzer problemlere sahiptir. Bu yöntemler büyük ve ağır inekler için yeterli desteği sağlayamamaktadır [2]. Lastein [2] tarafından 1970'lerin sonlarında kendi yatalak hayvanlarını tedavi etmek amacıyla geliştirilen,

flotasyon tekniği de benzer prensiplerle çalışmaktadır. Özel olarak tasarlanmış bir tanka, yatalak hayvan bir halı içine sarılıp bir kaldıraç yardımıyla alındıktan sonra içerisine su doldurularak kalkmasına yardım edilmeye çalışılmıştır [56]. Bu teknik araştırmacılar tarafından birkaç araştırmada kullanılmış ve %37-46 oranında başarılı bulunmuştur [7,56,60]. Tekniğin olumsuz yönleri, hayvanın tanka alınmasının zor olması, büyük miktarda sıcak suya ihtiyaç duyulması ve hayvanda hipertermi veya hipotermi riski barındırması olarak belirtilmiştir. Hayvanın rahat bir şekilde ayağa kalkarak uzun süre ayakta tutulabilmesi ve oluşturulan kuvvetin tüm vücuda eşit olarak yayılması ise avantaj olarak belirtilmiştir [2].

9. KORUNMA

Korunma için yapılması gerekenler beş başlık altında incelenebilir; 1) Süt humması riskini en aza indirmek; 2) Gebelik süresince doğru besleme programı uygulamak ve doğuma optimum vücut kondisyonunda girmesini sağlamak; 3) Teşhis edilen metabolik hastalıklara hızla ve doğru müdahalede bulunmak, 4) Uygun boğa kullanarak, büyük buzağı doğumlarını ve güç doğumları engellemek, 5) Doğum bölmelerine yumuşak ve uygun altlık sağlamak [41].

Yapılan bir çalışmada laktasyona yatalak olarak giren ineklerin sorunsuz olarak giren ineklere göre sürüden çıkarılma oranının 3,5 kat fazla olduğu gösterilmiştir [64]. Veteriner hekimlerin öncelikli hedeflerinden biri üreticilere sürü yönetimi ve yatalaklığın önlenmesi konusunda yardımcı olmaktır. Veteriner hekimler geniş alanlarda uygun besleme programları, sürü sağlığı ve yönetimi, hayvan refahı, temizlik ve sanitasyon, doğum prosedürleri ve tesisler konularında önerilerde bulunmalıdırlar [26,28]. Yatalaklığın önemli risk faktörleri, hipokalsemi ve doğum ile ilişkili komplikasyonlar ve yaralanmalardır. Bu nedenle periparturient inekler yakından izlenmelidir. Bu amaçla video kayıtlı kamera sistemleri uygun bir seçenektir [51]. İneklerde topallığı en aza indirmek yatalaklığın oluşumunu engellemeye katkıda bulunacaktır. Özellikle periparturient dönemdeki ineklerin sessiz, sakin ve kaygan olmayan zeminde bulunması doğum ve düşmeye bağlı yaralanmaların önüne geçmeye yardımcı olacaktır [64].

KAYNAKLAR

- [1] Cox VS. Nonsystemic causes of the downer cow syndrome. *Vet Clin Food Anim Pract.* 1988; 4: 413-433.
- [2] Dahlberg J. Flotation therapy for downer cows. *Examensarbete.* 2012; 28:5-27
- [3] Björnsell A, Holtenius K, Jacobsson P. Studies on parturient paresis with special reference to the downer cow syndrome. *Acta Vet Scand.* 1969; 10: 36-43.
- [4] Fenwick DJ. Parturient paresis (milk fever) of cows. 1. The response to treatment and the effect of the duration of symptoms. *Aust Vet J.* 1969; 45: 111-113.

- [5] Cox VS. Understanding the downer cow syndrome. *Comp Cont Ed.* 1981; 3: S472-S478.
- [6] Angelos JA, Smith BP. Down cows (Alert downers). In: Smith BP, editor. *Large Animal Internal Medicine*. 5th ed. California: Mosby; 2002. p. 1013-1014.
- [7] Burton AJ, Nydam DV, Ollivett TL, Divers TJ. Prognostic indicators for nonambulatory cattle treated by use of a flotation tank system in a referral hospital: 51 cases (1997–2008). *J Am Vet Med Assoc.* 2009; 234: 1177-1182.
- [8] Gül Y, İssi M, Deveci H. Süt ineklerinde yatalak hal (Recumbent cow, Festliegende küh). *Fırat Univ Sag Bil Derg.* 2007; 21:179-182.
- [9] Curtis RA, Cote JF, Willoughby RA. The downer cow syndrome a complication, not a disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1970; 51: 25-28.
- [10] Güneş V. Yatalak inek sendromu. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci.* 2011; 2: 151-157.
- [11] Green A, Lombard J, Garber L, Wagner B, Hill GJ. Factors associated with occurrence and recovery of nonambulatory dairy cows in the United States. *J Dairy Sci.* 2008; 91: 2275-2283.
- [12] Radostits OM GC, Hinchliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine*. 10th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006.
- [13] Jönsson G, Pehrson BJ. Studies on the downer syndrome in dairy cows. *Zbl Vet Med.* 1969; 16: 757-784.
- [14] Chénier S, Leclère M, Messier S, Fecteau G. *Streptococcus dysgalactiae* cellulitis and toxic shock-like syndrome in a Brown Swiss cow. *J Vet Diagn Invest.* 2008; 20: 99-103.
- [15] Blood DC, Henderson JA, Radostits OM. *Veterinary Medicine*. 5th ed. London: Bailliere Tindall; 1979.
- [16] Berchtold J. Musculoskeletal System. In: Khan CM, Line S, editors. *The Merck Veterinary Manual*. 10th ed. New Jersey: Merck and Co; 2010. p. 1082-1086.
- [17] Smith B, George L, Angelos S, House J. Down cows: causes and treatments. *Proc Am Assoc Bovine Pract Conv.* 1997; 43-45.
- [18] Van Metre D, Callan R, Garry FJ. Downer cows-Diagnosis and assessment. *Proc Annu Meet Coll Vet Intern Med.* 2003; 318-320.
- [19] Raja S, Vajayarajan A, Palanisamy M, Prabaharan V, Rajkumar R, Jayaganthan P. An overview of peripartum downer cow and its fertility. *Indian Farmer.* 2018; 5: 608-614.
- [20] Poulton P. Examination, diagnosis, prognosis and management of downer cows. PhD, Melbourne: Melbourne University; 2015.
- [21] Julien WE, Conrad H, Redman DJ. Influence of dietary protein on susceptibility to alert downer syndrome. *J Dairy Sci.* 1977; 60: 210-215.
- [22] Cox VS, McGrath C, Jorgensen SJ. The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome. *Am J Vet Res.* 1982; 43: 26-31.
- [23] Poulton P, Vizard A, Anderson G, Pyman MJ. Importance of secondary damage in downer cows. *Aust Vet J.* 2016; 94: 138-144.
- [24] Pehrson B. Studien Über Das Festliegen (Downer-Syndrome) Bei Milchkühen, Atypisches Festliegen Beim Rind. *Kongressband Internationaler Workshop*; 2002.
- [25] Goff JP. Macromineral disorders of the transition cow. *Vet Clin Food Anim Pract.* 2004; 20: 471-494.
- [26] Correa MT, Erb HN, Scarlett JMJ. Risk factors for downer cow syndrome. *J Dairy Sci.* 1993; 76: 3460-3463.
- [27] Cox VS, Farmsworth RJ. Prevention and treatment of down cows: a continuum, in *Proceedings. 31st Annu Conf Am Assoc Bovine Pract.* 1998;167-169.
- [28] Stull CL, Payne MA, Berry SL, Reynolds JPI. A review of the causes, prevention, and welfare of nonambulatory cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 2007; 231: 227-234.
- [29] Bostancı MA. Yüksek süt verimine sahip ineklerde doğum felcinin profilaksisinde diyetler magnezyum sülfat'ın önemi. *Doktora Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi*; 2002.
- [30] Klimienė I, Špakauskas V, Matusėvičius AJ. Correlation of different biochemical parameters in blood sera of healthy and sick cows. *Vet Res Commun.* 2005; 29: 95-102.
- [31] Oikawa S, Katoh NJC. Decreases in serum apolipoprotein B-100 and AI concentrations in cows with milk fever and downer cows. *Can J Vet Res.* 2002; 66: 31-34.
- [32] Sevinç, M. Sütçü ineklerde doğum felcinin karaciğer yağlanması ile ilgisi, *Doktora Tezi, Konya:Selçuk Üniversitesi*; 1994.
- [33] Martens H, Schweigel MJ. Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesemias: implications for clinical management. *Vet Clin Food Anim Pract.* 2000; 16: 339-368.
- [34] Peek SF, Divers T, Guard C, Rath A, Rebhun WJ. Hypokalemia, muscle weakness, and recumbency in dairy cattle. *Vet Ther.* 2000; 1: 235-244.
- [35] Oem JK, Chung JY, Roh IS, Kim HR, Bae YC, Lee KH, et al. Characterization and phylogenetic analysis of Bovine viral diarrhoea virus in brain tissues from nonambulatory (downer) cattle in Korea. *J Vet Diagn Invest.* 2010; 22: 518-523.
- [36] Rulff R, Schrödl W, Basiouni S, Neuhaus J, Krüger MJ. Is downer cow syndrome related to chronic botulism?. *Pol J Vet Sci.* 2015; 18: 759-765.
- [37] Rukkamsuk T, Kruip T, Wensing TJ. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet Q.* 1999; 21: 71-77.
- [38] Collins R, Reid IJ. A correlated biochemical and stereological study of periparturient fatty liver in the dairy cow. *Res Vet Sci.* 1980; 28: 373-376.
- [39] Rehage J, Qualmann K, Meier C, Stockhofe-Zurwieden N, Hoeltershinken M, Pohlenz JJ. Total serum bile acid concentrations in dairy cows with fatty liver and liver failure. *Dtsch Tierarztl Wschr.* 1999; 106: 26-29.
- [40] Staufenbiel R, Staufenbiel B, Rossow N, Klukas H, Johannsen U. Diagnostik der Leberverfettung bei

- der milchkuh. Dtsch Tierärztl Wschr. 1993; 100: 209-248.
- [41] Allen W, Davies DJB. Milk fever, hypomagnesaemia and the 'downer cow syndrome'. *Vet J.* 1981;137: 435-441.
- [42] Erb H, Grohn YJ. Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow. *J Dairy Sci.* 1988; 71: 2557-2571.
- [43] Cox VS, Marsh WE, Steuernagel GR, Fletcher TF, Onapito JSJ. Downer cow occurrence in Minnesota dairy herds. *Prev Vet Med.* 1986; 4: 249-260.
- [44] Huxley JJ. Assessment and management of the recumbent cow. In *Practice.* 2006; 28: 176-184.
- [45] Stöber M, Dirksen G. The recumbent cow: differential diagnosis and differential therapy. *Vet Ann.* 1982; 22: 81-94.
- [46] Yılmaz Z. Downer cow sendromu. *Veteriner Cerrahi Dergisi.* 2000; 6: 85-88.
- [47] Andrews T. The 'downer cow'. In *Practice.* 1986; 8: 187-189.
- [48] Güzelbekteş H, Coşkun A, Öztürk AS, Şen İ, Ok M. Yatalak ineklerde kan gazları, hematolojik ve bazı biyokimyasal değişiklikler. *Vet Bil Derg.* 2006; 22:5-10.
- [49] Onmaz AC, Aytekin I, Aypak SU, Gunes V, Kucuk O, Ozturk AS. Trace elements and biochemical and haematological parameters in cows with downer syndrome. *Bull Vet Inst Pulawy.* 2011; 55: 525-528.
- [50] Rulff R, Schrödl W, Basiouni S, Krüger MJ. Biochemical investigations and glyphosate detection in downer cow syndrome. *Intl J Sci Eng Res.* 2016; 7: 1548-1553.
- [51] Cox VS. Pathogenesis of the downer cow syndrome. *Vet Rec.* 1982; 111: 76-79.
- [52] Clark R, Henderson H, Hoggard G, Ellison R, Young BJ. The ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows. *N Z Vet J.* 1987; 35: 126-133.
- [53] Kachhawaha S, Tanwar RJ. Biochemical and enzymatic changes in downer cow syndrome. *Indian J Anim Sci.* 2010; 80: 338-339.
- [54] Huxley J, Archer S, Biggs A, Bradley A, Breen J, Green M, et al. An expert review of the diagnosis, prognosis and treatment of recumbency in adult cattle. *Cattle Practice.* 2010; 18: 53-60.
- [55] Smith-Maxie, L. Diseases of the nervous system. In: Greenough PR, Weaver AD, editors. *Lameness in cattle.* Philadelphia: Saunders; 1997. p. 203-218.
- [56] Caple IW. Downer cow syndrome. In: Howard JL, editor. *Current Veterinary Therapy Food Animal Practice.* 2nd ed. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders Company; 1986. p. 327-328.
- [57] Belloli A, Arrigoni S, Guarneri DJ. Approccio clinico della "Sindrome della vacca a terra". *Large Animal Review.* 1996; 2: 19-24.
- [58] Parkinson TJ, Vermunt JJ, Malmo J. Diseases of cattle in Australasia: A Comprehensive Textbook. 1th ed. New Zealand: New Zealand Veterinary Association Foundation for Continuing Education; 2010. p. 541-547.
- [59] Giudice E, Giancesella MJ. Hydro-physiotherapy in the "downer cow" rehabilitation. *Large Animal Review.* 2010; 16: 125-131.
- [60] Van Metre DC, Callan RJ, Garry FB. Examination of the musculoskeletal system in recumbent cattle. *Comp Cont Educ.* 2001; 23: S5-S24.
- [61] Fenwick D, Kelly W, Daniel RC. Definition of a non-alert downer cow syndrome and some case histories. *Vet Rec.* 1986; 118: 124-128.
- [62] Tulleners E, Nunamaker D, Richardson DJ. Coxofemoral luxations in cattle: 22 cases (1980-1985). *J Am Vet Med Assoc.* 1987; 191: 569-574.
- [63] Milian-Suazo F, Erb HN, Smith RD. Descriptive epidemiology of culling in dairy cows from 34 herds in New York state. *Prev Vet Med.* 1988; 6: 243-251.
- [64] Grandin T. Welfare of cattle during slaughter and the prevention of nonambulatory (downer) cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 2001; 219:1377-1382.