

ISSN 1308-7576
e-ISSN 1308-7584

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ

YYÜ TAR BİL DERG

YUZUNCU YIL UNIVERSITY
JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES

YYU J AGR SCI

Cilt (Volume): 31 Sayı (Number): 2 Haziran (June) 2021

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 65080 Van, Türkiye
Van Yuzuncu Yil University Agriculture Faculty, 65080 Van, Turkey
<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Previous Names of the Journal: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi (Yuzuncu Yil University, Agriculture Faculty Journal of Agriculture Science) and Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi (Yuzuncu Yil University, Journal of Agriculture Faculty)

Dergimiz CAB Abstracts, FAO AGRIS/CARIS ve TÜBİTAK/ULAKBİM Veri Tabanlarına girmektedir. Ulrich's Directory, EBSCO, ISC, Directory of Open Access Journals (DOAJ), ISI Thompson Master Journal List (Zoological Record) ve SCOPUS'a dahildir.

Our Journal is abstracted in CAB Abstracts, FAO AGRIS/CARIS and TUBITAK/ULAKBİM Data Bank. Listed in Ulrich's Directory, EBSCO, ISC, Directory of Open Access Journals (DOAJ), ISI Thompson Master Journal List (Zoological Record) and SCOPUS.

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ
(Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences)

SAHİBİ (OWNER)
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ ZİRAAT FAKÜLTESİ ADINA
(Behalf on Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture)

(Dekan /Dean)
Prof. Dr. Murat TUNÇTÜRK

Sorumlu Müdür (Manager in Charge) / Baş Editor (Chief Editor)
Doç. Dr. Tamer ERYİĞİT

Yardımcı Editörler (Associated Editors)

ERDİNÇ, Çeknas (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ÇAKMAKCI, Talip (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN

Yayın Kurulu (Editorial Board)

TUNÇTÜRK, Murat (Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ERDİNÇ, Çeknas (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ERDOĞAN, Sibel (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ERYİĞİT, Tamer (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ÇAKMAKCI, Talip (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
TERİN, Mustafa (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
USTA, Mustafa (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN

İstatistik Editörleri (Statistical Consultants)

TAKMA, Çiğdem (Prof. Dr.) Ege University, Faculty of Agriculture, İZMİR
YEŞİLOVA, Abdullah (Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
SER, Gazel (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN

Konu Editörleri ve Bilimsel Danışma Kurulu (Section Editors and Scientific Board)

ALP, Şevket (Prof. Dr.) Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Van Yüzüncü Yıl University
ARPALI, Diğdem (Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Van Yüzüncü Yıl University
AYKUT TONK, Fatma (Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Ege University
BAUERPETROVSKA, Biljana (Prof. Dr.) Tıbbi ve Ar. Bit. / Med. and Aromatic Plants, Ss. Cyril and Methodius Univ., Macedonia
ÇALIŞKAN, Sevgi (Prof. Dr.) Bitkisel Üret. ve Tek. / Plant Production and Tech., Niğde Ömer Halisdemir University
ÇELEN, Ahmet Esen (Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Ege University
DANESH, Younes Rezaee (Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Urmia University, Iran
DEMİREL, Murat (Prof. Dr.) Hayvan Besleme / Animal Nutrition, Van Yüzüncü Yıl University
ERDOĞAN, Reyhan (Prof. Dr.) Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Akdeniz University
GÜLSER, Füsün (Prof. Dr.) Top. Bil. ve Bit. Bes. / Soil Science and Plant Nutrition, Van Yüzüncü Yıl University
HEPAKSOY, Serra (Prof. Dr.) Bahçe Bitkileri / Horticulture, Ege University
IBRALIU, Alban (Prof. Dr.) Bitkisel Üretim / Crop Production, Agricultural University of Tirana, Albania
JAVED, Khalid (Prof. Dr.) Veterinerlik ve Hayvan Bilimleri Üniv. / Animal Science, Lahore, Pakistan
KAŞKAVALCI, Galip (Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Ege University
KURT, Şener (Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Hatay Mustafa Kemal University
KURTAR, Ertan Sait (Prof. Dr.) Bahçe Bitkileri / Horticulture, Selçuk University
LASZLO, Kocsis (Prof. Dr.) Bağcılık / Viticulture, Georgikon Fak.Pannonia Univ., Keszthely, Hungary
LUDIDI, Ndomelele Ndiko (Prof. Dr.) Bitkisel Biyoteknoloji / Plant Biotechnology, Univ. of the Western Cape, South Africa
ÖZGÖKÇE, M. Salih (Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yüzüncü Yıl University
REZAAE DANESH, Younes (Prof. Dr.) Fitopatoloji / Phytopathology, Urmia University, Iran
SALAMON, Ivan (Prof. Dr.) Ekoloji / Ecology, University of Presov, Ukraine
ŞEKEROĞLU, Nazım (Prof. Dr.) Bahçe Bitkileri / Horticulture, Kilis 7 Aralık University
ŞEN, Fazıl (Prof. Dr.) Su Ürünleri / Fisheries, Van Yüzüncü Yıl University
TUNÇTÜRK, Murat (Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Van Yüzüncü Yıl University
TUNÇTÜRK, Rüveyde (Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Van Yüzüncü Yıl University
TUNÇTÜRK, Yusuf (Prof. Dr.) Gıda Mühendisliği / Food Science, Van Yüzüncü Yıl University
TURANLI, Ferit (Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Ege University
TÜRKOĞLU, Nalan (Prof. Dr.) Süs Bitkileri / Ornamental Plant Production, Van Yüzüncü Yıl University
USTUN, Şahin (Prof. Dr.) Tarımsal Yapılar ve Sulama / Agricultural Structures and Irrigation, Atatürk University
YILDIRIM, İbrahim (Prof. Dr.) Tarım Ekonomisi / Agricultural Economics, Van Yüzüncü Yıl University
YILMAZ, Deniz (Prof. Dr.) Tarım Mak. ve Tek. Müh. / Agr. Mach. and Tech. Eng., Isparta University of Appl. Sci.
AĞLAR, Erdal (Assoc. Prof. Dr.) Organik Tarım / Organic Agriculture, Sivas Cumhuriyet University
ALYOKHIN, Andrei V. (Assoc. Prof. Dr.) Uyg. Entomoloji / Applied Entomology, Maine Univ., Orono ME, USA
BAKKALBAŞI, Emre (Assoc. Prof. Dr.) Gıda Mühendisliği / Food Science, Van Yüzüncü Yıl University
BALOCH, Faheem (Assoc. Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Sivas University of Science and Technology
DEMİRER DURAK, Emre (Assoc. Prof. Dr.) Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yüzüncü Yıl University
DEMİROĞLU TOPÇU, Gülecan (Assoc. Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Ege University
EKİNCİ, Melek (Assoc. Prof. Dr.) Bahçe Bitkileri / Horticulture, Ataturk University
KARACA, Serhat (Assoc. Prof. Dr.) Hayvan Yetiştirme ve Islahı / Animal Breeding, Van Yüzüncü Yıl University
KENDAL, Enver (Assoc. Prof. Dr.) Tarla Bitkileri / Field Crops, Mardin Artuklu University
KIZILGECİ, Ferhat (Assoc. Prof. Dr.) Tohumculuk Teknolojisi / Seed Cultivation Technology, Mardin Artuklu University
SHAHID, M. Qasim (Assoc. Prof. Dr.) Tarımsal Biyoteknoloji / Agricultural Biotech., South China Agricultural Univ., China

ŞATIR, Onur (Assoc. Prof. Dr.)
TÖLÜ, Cemil (Assoc. Prof. Dr.)
TUNCER, Burcu (Assoc. Prof. Dr.)
YILDIZ, Mehtap (Assoc. Prof. Dr.)
TERİN, Mustafa (Assist. Prof. Dr.)
YEMİŞ, Gökçe (Assist. Prof. Dr.)
YERĞİN ÖZKAN, Reyhan (Assist. Prof. Dr.)

Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture, Van Yüzüncü Yıl University
Zootekni / Zootechnics, Çanakkale Onsekiz Mart University
Bahçe Bitkileri / Horticulture, Van Yüzüncü Yıl University
Tarımsal Biyoteknoloji / Agricultural Biotechnology, Van Yüzüncü Yıl University
Tarım Ekonomisi / Agricultural Economy, Van Yüzüncü Yıl University
Gıda Mühendisliği / Food Science, Sakarya University
Bitki Koruma / Plant Protection, Van Yüzüncü Yıl University

Bu Sayının Hakem Listesi (Referee List in This Number)

AĞLAR, Erdal (Assoc. Prof. Dr.) Sivas Cumhuriyet University, Şuşehri Healty Vocational School, SİVAS
AKSOY, Adem (Prof. Dr.) Atatürk University, Faculty of Agriculture, ERZURUM
AYDIN, Mehmet Hadi (Assoc. Prof. Dr.) Siirt University, Faculty of Agriculture, SİİRT
BALTA, Fikri (Prof. Dr.) Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, RİZE
BİLİR, Nebi (Prof. Dr.) Isparta Applied Sciences University, Faculty of Forestry, ISPARTA
CAVİDOĞLU, İsa (Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Engineering, VAN
ÇAĞLAK, Emre (Assoc. Prof. Dr.) Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, RİZE
ÇELİK, Ferit (Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
DEMİR, Semra (Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
DEMİRER DURAK, Emre (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
DUTKUNER, İsmail (Assoc. Prof. Dr.) Isparta Applied Sciences University, Faculty of Forestry, ISPARTA
EMLACI, Ömer Lütfü (Prof. Dr.) Ege University, Faculty of Agriculture, İZMİR
ERİNÇİK, Ömer (Prof. Dr.) Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, AYDIN
EROĞLU, Ayten (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Science, VAN
ERPER, Erdal (Assoc. Prof. Dr.) Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, SAMSUN
ERTÜRK, Yakup Erdal (Assoc. Prof. Dr.) İğdir University, Faculty of Agriculture, İĞDIR
HEPSEN TÜRKAY, Fevziye Ş. (Assist. Prof. Dr.) Ahi Evran University, Faculty of Agriculture, KIRŞEHİR
GAZEL, Mona (Prof. Dr.) Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, HATAY
GEÇER, Mustafa Kenan (Assist. Prof. Dr.) Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, BOLU
GÜLCUBUK, Bülent (Prof. Dr.) Ankara University, Faculty of Agriculture, ANKARA
GÜLSER, Coşkun (Prof. Dr.) Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, SAMSUN
GÜMÜŞ, Mustafa (Prof. Dr.) Ege University, Faculty of Agriculture, İZMİR
GÜNDÖĞDU, Müttalip (Prof. Dr.) Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture, BOLU
KARAHAN, Faruk (Dr.) Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Arts and Science, HATAY
KARAKAYA, Ersin (Dr.) Bingöl University, Faculty of Agriculture, BİNGÖL
KAŞKAVALCI, Galip (Prof. Dr.) Ege University, Faculty of Agriculture, İZMİR
KAVUT, Yaşar Tuncer (Assoc. Prof. Dr.) Ege University, Faculty of Agriculture, İZMİR
KESEN, Songül (Assoc. Prof. Dr.) Gaziantep University, Naci Topçuoğlu Vocational School, GAZİANTEP
KIRICI, Muammer (Assist. Prof. Dr.) Bingöl University, Vocational School of Food, Agriculture and Livestock, BİNGÖL
KOÇAK, Metin (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
KULAÇ, Şemsettin (Assist. Prof. Dr.) Düzce University, Faculty of Forestry, DÜZCE
KÜÇÜKER, Emine (Assoc. Prof. Dr.) Siirt University, Faculty of Agriculture, SİİRT
NERGİZ UYAR, Hümevra (Assist. Prof. Dr.) Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Arts and Science, ZONGULDAK
OĞUZ, Halil İbrahim (Prof. Dr.) Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Engineering-Architecture Faculty, NEVŞEHİR
OĞUZHAN YILDIZ, Pınar (Assist. Prof. Dr.) Atatürk University, Faculty of Fisheries, ERZURUM
ÖZGÖZ, Engin (Assoc. Prof. Dr.) Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Agriculture, TOKAT
ÖZTÜRK, Ali (Prof. Dr.) Atatürk University, Faculty of Agriculture, ERZURUM
SADE, Bayram (Prof. Dr.) KTO Karatay University, KONYA
SİPAHIOĞLU, Hikmet Murat (Prof. Dr.) Malatya Turgut Özal University, Faculty of Agriculture, MALATYA
ŞAHİN, Ahmet (Assoc. Prof. Dr.) Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Agriculture, KAHRAMANMARAŞ
ŞİMŞEK, Uğur (Assoc. Prof. Dr.) İğdir University, Faculty of Agriculture, İĞDIR
TUNCER, Burcu (Assoc. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
ULU, Tufan Can (Assist. Prof. Dr.) Bilecik Şeyh Edebali University, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, BİLECİK
ULUKAN, Hakan (Prof. Dr.) Ankara University, Faculty of Agriculture, ANKARA
UNAKITAN, Gökhan (Prof. Dr.) Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, TEKİRDAĞ
USLU, Ömer Süha (Assist. Prof. Dr.) Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Agriculture, KAHRAMANMARAŞ
ÜRKÜ, Çiğdem (Dr.) İstanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, İSTANBUL
YAVIÇ, Adnan (Assist. Prof. Dr.) Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, VAN
YILDIZ, Ayhan (Prof. Dr.) Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, AYDIN
YILMAZ, Cenap (Assist. Prof. Dr.) Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, ESKİŞEHİR
YÜZBAŞIOĞLU, Rüveyda (Assist. Prof. Dr.) Tokat Gaziosmanpaşa University, Faculty of Agriculture, TOKAT

Yayın Koordinatörleri (Typesetting)

Arş. Gör. Dr. M. Reşit KARAGEÇİLİ
Dr. Yekbun ALP
Arş. Gör. Enes FİDAN
Arş. Gör. Gökhan BOYNO
Arş. Gör. M. Ramazan RIŞVANLI
Arş. Gör. Sezen TAYAM
Ziraat Yüksek Mühendisi Muhsin YILDIZ
Ziraat Yüksek Mühendisi Ezelhan ŞELEM

Web Sorumlusu (Internet Office)

Arş. Gör. Dr. M. Reşit KARAGEÇİLİ
Dr. Yekbun ALP

Yayın Türü (Publication Type)
Uluslararası Süreli Bilimsel Yayın (International Scientific Periodical)

Yönetim Yeri ve Yazışma Adresi (Correspondence Address)
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, (Agriculture Faculty) Ziraat Fakültesi, Zeve Yerleşkesi, 65080, VAN

Cilt (Volume): 31

Sayı (Number): 2

Haziran (June) 2021

Telefon (Phone)
+90 (432) 2251056; 2251024

Belgegeçer (Fax)
+90 (432) 2251104

e-posta (e-mail)
yyujagrsci@gmail.com

İnternet adresi: <http://dergipark.gov.tr/vyutbd>

ISSN 1308-7576 e-ISSN 1308-7584

Basıldığı Yer ve Tarih (Press and Date): Efe Kırtasiye, Haziran (June) 2021, VAN

“Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi” önceden yayınlanan **“Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi”** ve **“Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi”**nin devamıdır.
Previous names of the journal: “Yuzuncu Yıl University, Agriculture Faculty Journal of Agriculture Sciences” and **“Yuzuncu Yıl University, Journal of Agriculture Faculty”**



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)

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



Araştırma Makalesi (Research Article)

Akdeniz Bölgesinde Çeltik Yanıklık Hastalığı (*Pyricularia oryzae*)'nın Yönetiminde Farklı İlaçlama ve Ekim Yöntemlerinin Etkinliğinin Belirlenmesi**

Efkan AKÇALI*¹, Şener KURT²

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü, 01321, Adana, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 31060, Hatay, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-5486-7502> ²<https://orcid.org/0000-0003-4545-5968>

*Sorumlu yazar e-posta: akcaliefkan@hotmail.com; efkan.akcali@tarimorman.gov.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 15.04.2020
Kabul: 28.05.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.844852

Anahtar kelimeler

Çeltik,
Çeltik yanıklık hastalığı,
Hastalık yönetimi.

Öz: Çeltik, insan beslenmesinde önemli besin kaynaklarından birisidir. Çeltik yanıklık hastalığına neden olan *Pyricularia oryzae* çeltik yetiştirilen alanlarda görülen en yıkıcı hastalıktır. Bu çalışmanın amacı Akdeniz Bölgesinde çeltik alanlarında yanıklık hastalığına karşı farklı ilaçlama ve ekim şeklinin hastalık şiddeti ve verim üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Tarla denemeleri, 2011 ve 2012 yıllarında sırasıyla Adana İli Yüreğir ilçesi, Tabaklar Köyü'nde ve Mersin ili Silifke ilçesi Sökün Köyü'nde Edirne çeşidi yetiştirilen çeltik tarlasında yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda, ilaçlı tohum ekimi ve fide dikimi hastalık şiddetini düşürmüştür. En düşük hastalık şiddetinin yıllara göre % 6.1 ve %9.3 ile ilaçlı tohum şeklinde fide dikimi yapılan parselde olduğu belirlenmiştir. İlaçlı tohum şeklinde fide dikimi yapılan parselde yeşil aksam ilaçlaması sonucunda da hastalık şiddeti yıllara göre % 6.6 ve % 4.6 ile en düşük bulunmuştur. Farklı ilaçlama metodu ve ekim yöntemlerinin ise verim üzerine etkisi gözlenmemiştir.

Determination of the Efficacy of Different Spraying and Planting Methods on Management of Rice Blast Disease (*Pyricularia oryzae*) in the Mediterranean Region

Article Info

Received: 15.04.2020
Accepted: 28.05.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.844852

Keywords

Rice,
Rice blast disease,
Disease management.

Abstract: Rice is one of the important food sources in human nutrition. Rice blast disease caused *Pyricularia oryzae* is the most destructive disease which is seen in rice growing. The aim of this study was to investigate the effect of different spraying and planting methods on disease severity and yield in rice fields in the Mediterranean Region. Field trials were conducted onto rice fields which were grown Edirne variety in the Tabaklar village, Yüreğir, Adana province and Sökün village, Silifke, Mersin province in 2011 and 2012, respectively. As a result of this study, the use of treated seeds and seedlings reduced the severity of the disease. The lowest disease severity was found as 6.1% and 9.3% where it was used by years. However, the disease severity was also recorded as the lowest value by 6.6% and 4.6%, respectively through foliar spraying in the plot where the seedlings were performed from treated seeds by years. No impact on different spraying and planting methods on the yield was found.

1.Giriş

Dünyada stratejik önemi yüksek bitki türlerinden birisi olan çeltik (*Oryza sativa* L.), insan beslenmesinde buğday bitkisinden sonra gelen önemli gıda maddelerinden biridir. Diğer bir deyişle çeltik, dünya nüfusunun % 50'sinden fazlası için önemli bir temel gıda ürünüdür ve özellikle Asya gıda pazarlarına hakimdir.

Beslenmeleri nişasta esasına dayalı ve özellikle iklim koşullarının çeltik tarımını zorunlu kıldığı ülkelerde, çeltik yetiştiriciliğinin önemi çok daha fazla ön plana çıkmaktadır.

Dünyada yaklaşık 166 milyon hektar alanda 770 milyon ton çeltik üretimi yapılmaktadır. Dünya çeltik üretim miktarının yaklaşık % 90.3 Asya kıtasında gerçekleşmektedir. Dünya üretiminde Çin, 208 milyon ton ile % 27'lik paya sahip iken bu ülkeyi % 22 ile Hindistan ve % 9.7 ile Endonezya takip etmektedir (Anonim, 2018a). Türkiye'de Marmara, Karadeniz, Güneydoğu Anadolu, Akdeniz ve Ege bölgelerinde 120 bin hektar alanda 940 bin ton çeltik üretilmektedir. Toplam çeltik üretiminin % 94'lük kısmı, Marmara ve Karadeniz bölgelerinde gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2018b).

Dünyada ve ülkemizde çeltik ekimi, çoğunlukla tohumların su dolu tavalara serpmeye yöntemi ile yapılmaktadır. Ayrıca, üretim esnasında kullanılan suyun % 35 oranında azaltılabilmesi ve yabancı otlarla daha iyi mücadele edilebilmesi (De Datta, 1981) amacıyla fide yastıklarında yetiştirilen fidelerin, fideleme makinası vasıtasıyla tarlada oluşturulan tavalara içine şaşırtılması suretiyle yetiştiricilik yapılmaktadır.

Çeltik üretiminin % 37'sinin hastalık ve zararlı nedeniyle kaybedilmektedir. Fungusların neden olduğu çeltik hastalıkları, pirinç üretiminde ana kısıtlayıcı faktör olarak kabul edilir ve hem kalitatif hem de kantitatif kayıplara neden olur (Kongcharoen ve ark., 2020). Özellikle çeltikte *Pyricularia oryzae*'nin neden olduğu yanıklık, yol açtığı % 50'ye varan verim kayıplarından dolayı en önemli hastalık olarak bildirilmiştir (Nalley ve ark., 2016). Bu fungus, fide aşamasından başlayarak tüm büyüme aşamalarında pirinci enfekte ederek, pirinç yapraklarına ciddi zarar verebilmektedir. Duyarlı çeltik çeşitlerinde uygun koşullarda (25–30°C sıcaklık ve % 80–95 nem) % 80'e varan kayıplara neden olabilir. Çeltik ekim alanlarında *Pyricularia oryzae* Cavara (syn. *Magnaporthe oryzae* B. C. Couch)'nin neden olduğu çeltik yanıklık hastalığı, her yıl görülebilen ve zaman zaman büyük epidemilere neden olan hastalıkların başında gelmektedir. Bu patojeni çeltik kök çürüklüğü (*Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wt., *Fusarium moniliforme* Sheld.) ve çeltik kahverengi yaprak lekesi (*Cochliobolus miyabeanus* (Ito and Kuribayashi) Drechsler & Dastur *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subram & Jain) takip etmektedir (Aktaş ve Tunali, 1986).

Çeltik yanıklık hastalığı etmeni *Magnaporthe grisea* [anamorph *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., syn. *Pyricularia.oryzae* Cav.], Ascomycota şubesi Sordariomycetes sınıfından Magnaporthales takımına bağlı Magnaporthaceae familyası içerisinde yer alan heterotallik bir fungustur. *P.oryzae* etmeninden kaynaklanan hastalığın oluşum ve şiddetindeki değişiklikler; yıl, bölge, çeşit, ürün yönetim uygulamaları ve çevre şartlarına bağlı olarak farklılık göstermektedir (Ou, 1985). Mücadele yapılmadığı takdirde duyarlı çeşitlerin yetiştirildiği alanlarda % 60-100 arasında değişen oranlarda verim kaybına neden olabilmektedir (Aravindan ve ark., 2016). Ülkemizde çeltik yanıklık hastalığının, Karadeniz Bölgesi'nde Tortum vadisinde % 75'lere varan düzeyde, Sinop, Ünye ve Terme' de % 25-75 arasında, İç Anadolu Bölgesi'nde ise oransal nemin düşük olması nedeniyle % 7'yi geçmeyen seviyede ürün kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Anonim, 1995). Fungus, çeltik bitkisinin toprak üstü tüm aksamalarında enfeksiyon oluşturmakta olup bir yıldan diğer bir yıla çeltik anızları, yabancı otlar ve tohumla geçebilmekte ve bu geçiş yollarının en önemlisinin tohumla olduğu bilinmektedir.

Çeltik yanıklık hastalığı, küresel gıda güvenliğini tehdit eden ciddi bir fungal hastalıktır. Gelecekteki araştırmalar için tüm bitki koruma uygulamaları, entegre bir yaklaşımın parçası olmalı ve gelecekteki iklim koşullarında çeltik yanıklık hastalığının kontrolü için adaptasyon ve azaltma stratejileri geliştirmeye odaklanmalıdır (Asibi ve ark., 2019). Ülkemizde ve dünyada çeltik yanıklık hastalığının mücadelesinde yaygın olarak kimyasal mücadele yöntemi uygulanmaktadır. Bu amaçla; hastalığa karşı yeşil aksam ilaçlaması için, azoxystrobin + flutriafol, azoxystrobin + epoxiconazole, pyraclostrobin, picoxystrobin + cyproconazole, tebuconazole + azoxystrobin, trifloxystrobin + tebuconazole, trifloxystrobin, azoxystrobin, azoxystrobin + propiconazole, prochloraz + propiconazole, prochloraz+ epoxiconazole, propiconazole + azoxystrobin + cyproconazole,, boscalid + kresoxim-methylgibietken maddeli fungisitlerin yanısıra fluxapyroxad etken maddeli fungisitler tohum ilacı

olarak ruhsatlı bulunmaktadır (Anonim, 2020). Bazı ülkelerde; tohum fungusiti olarak melanin biyosentezini engelleyerek bitkinin direncini uyararak pyroquilon ve probenazole etken maddeli fungusitler kullanılmaktadır. Bununla mücadele etmek için en etkili, ekonomik olarak uygulanabilir ve çevre dostu strateji, dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesidir.

Sürdürülebilir tarımda, çevre sorunları ve pirinç yetiştiriciliğinde önemli ilerleme kaydetmek için çeltik yanıklık hastalığının biyolojik kontrol çözümüne ihtiyaç vardır (Chen ve ark., 2019). Yapılan çalışmada elde edilen mikroorganizmaların antifungal aktivitesi (*B. subtilis*, *B. cereus* ve *P. fluorescens*), çeltik patojeninin (*M. oryzae*) büyümesini engelleme yeteneklerini göstermiştir. Çeltik yanıklık hastalığı ile biyolojik mücadele kapsamında yapılan bir çalışmada (Gohel ve Chauhan, 2015), *Trichoderma* spp. ile yaprak uygulamasının etkili olduğunu kanıtlayarak çeltik yanıklık hastalığının oluşum düzeyini azalttığı ve verim parametrelerini arttırdığını bildirmiştir.

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastalıkla mücadelede uçakla yeşil aksam ilaçlanmasının yapılmaması, tohum fungusiti olarak ruhsatlı bir bitki koruma ürününün bulunmaması, *P. oryzae* ile çeltik bitkisi arasındaki interaksyonun, gen için gen ilişkisi ile yönetilmesi, fungusun bitki tarafından hemen tanınmaması, oluşan uyumlu ilişki ile konukçunun tepkisinin gecikmesi ve geciken bağışıklık tepkisi sonucu üretilen fitoaleksinlere karşı koyabilmek için patojen mekanizmalarının değişikliğe uğraması sonucu bitki dayanıklılığının kısa sürede kırılması, yıllara göre çeltik yanıklık hastalığına yakalanma sıklığı ile hastalığın salgın yapma sürecindeki dalgalanmalar sonucu kullanılan fungusitlerin etki düzeylerindeki azalmalar hastalığın yönetimini güçleştirmektedir.

Bu çalışma, hastalığın şiddetini azaltarak oluşabilecek verim kayıplarını önleyebilmek amacıyla tohum ilaçlaması, ekim şekli ve yeşil aksam ilaçlamasının hastalık şiddeti üzerine etkisi ile farklı ilaçlama metodu ve ekim yöntemlerinin verim üzerine etkisinin tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Bu çalışma bu kapsamda bir ilk niteliğindedir.

2. Materyal ve Yöntem

Deneme, 2011 yılında Adana ili Karataş ilçesine bağlı Tabaklar Köyü'nde (36° 46' 11 K, 035° 03' 37 D koordinatında) ve 2012 yılında Mersin'in Silifke ilçesine bağlı Sökün Köyü'nde (36° 19' 57 K, 033° 59' 15 D koordinatında) hastalığın yaygın olduğu çeltik üretim alanlarında kurulmuştur. Deneme de Edirne çeltik çeşidi, thiophanate-methyl (% 70) ve trifloxystrobin (% 50) etken madde içeren bitki koruma ürünleri (BKÜ) kullanılmıştır.

2.1. Deneme parselinin kurulması

Deneme; bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre 8 karakter ve 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. İki farklı çeltik üretim alanında gerçekleştirilmiş olan denemenin karakterlere göre kurulum planı

Ekim Şekilleri	Uygulamalar
Tohum Ekimi	İlaçlı Tohum Ekimi
	İlaçsız Tohum Ekimi
	İlaçlı Tohum + Yeşil Aksam İlaçlaması
	İlaçsız Tohum + Yeşil Aksam İlaçlaması
Fide Dikimi	İlaçlı Fide Dikimi
	İlaçsız Fide Dikimi
	İlaçlı Fide + Yeşil Aksam İlaçlaması
	İlaçsız Fide + Yeşil Aksam İlaçlaması

Deneme parsellerinde kullanılmak üzere 2004 yılında tescil edilen ve çeltik yanıklık hastalığına karşı hassas olduğu bilinen Edirne çeşidi, Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Tohum ilaçlaması yapılacak tohumlar, daldırma yöntemi ile 200 g/100L su dozunda thiophanate-methyl (Çizelge 2) içerisinde 30 saat süre ile bekletilerek ekime hazır hale getirilmiştir.

Çizelge 2. Denemeye alınan fungusitlere ait bazı özellikler

Etkili Madde Adı ve Oranı	Kimyasal Grup	Ticari Adı	Dozu
Thiophanate-methyl % 70	Benzimidazole	Sumitop	200 g/100 L
Trifloxystrobin % 50	Strobilurinler	Flint	20 g/100 L

Her iki yılda sözü edilen lokasyonlarda kurulan 9 m² büyüklüğündeki deneme parsellerine tohumlar, dekara 20 kg olacak şekilde serpmeye usulü ile ekilmiştir. Uygulamaların birbirini etkilemelerini önlemek için bloklar arası 1 m ve parseller arası iki sıra aralık bırakılmıştır.

Fide elde etmek için hazırlanan tohumlar, tarlaya ekim ile aynı tarihte içinde kum, toprak ve organik gübre karışımından (1:1:1) oluşan fide harcı bulunan viyollere ekilerek yaklaşık 12 gün süre ile yetiştirilmiştir. Deneme parsellerine aktarılmaya uygun hale gelen fideler, 9 m² büyüklüğündeki parsellere sıra arası 25 cm ve sıra üzeri 20 cm olacak şekilde 12 sıralı olarak dikilmiştir. Deneme parsellerine ekim öncesi taban gübresi olarak her parsele 15.15.15 kompoze gübreden 200 g ve salkım oluşturma döneminde üre gübresinden her parsele 150 g olacak şekilde uygulanmıştır.

İlk yıl kurulan denemede; yabancı otlardan darıcan (*Echinochloa crus-galli*) ile mücadelede Cyhalofob-butyl 200g/L ve kızotu (*Cyperus difformis*), topalak (*Cyperus rotundus*) ile mücadelede halosulfuron-methyl 3g/da, ertesi yıl deneme parselinde darıcan (*Echinochloa crus-galli*) ve topalak (*Cyperus rotundus*) ile mücadele amaçlı Cyhalofob-butyl 200 g/L ve halosulfuron-methyl 3g/da dozunda herbisit uygulanmıştır.

Yeşil aksam ilaçlaması birinci yıl hastalık belirtisinin çeltik parsellerinde görüldüğü eylül ayı başında, ikinci yıl ağustos ayı sonunda yapılmıştır. Yeşil aksam ilaçlamasında 20 g/da hesabı ile kalibrasyonu yapılmış ve sırt pülverizatörü ile trifloxystrobin fungusiti (% 50 etken madde içeren) uygulanmıştır.

2.2. Sayım ve değerlendirmeler

Birinci yıl hastalık belirtisinin çeltik parsellerinde görüldüğü eylül ayının ilk haftasında, ikinci yıl ağustos ayının sonunda her parselin sekiz ayrı yerine atılan ¼ m²'lik kare çember içinde kalan bitkilerden rastgele 50 yaprak alınarak 0-9 skalası (Anonim, 1996)'na göre değerlendirilerek hastalık şiddeti belirlenmiştir.

Çeltik yanıklık hastalığının yapraklarda oluşturduğu belirtilerini esas alarak yapılan değerlendirmede kullanılan 0-9 skalası (Anonim, 1996);

0: Enfeksiyon yok, 1: Toplu iğne başı büyüklüğünde küçük kahverengi lezyonlar, 2: Genişlemiş kahverengi lezyonlar, 3: Kahverengi sınırlı, 1-2 mm çapında, küçük, hafif yuvarlak ve uzunca gri nekrotik lekeler, 4: Elips şeklinde 1-2 cm uzunluğunda iki damar arasını kaplamış, yaprak yüzeyinin % 2'den azını kaplayan tipik yanıklık lekeleri, 5: Yaprak alanının % 10'una kadar olan kısmını kaplayan tipik yanıklık lekeleri, 6: Yaprak alanının % 10-25'ini etkileyen tipik yanıklık lekeleri, 7: Yaprak alanının % 26-50'sini etkileyen tipik yanıklık lekeleri, 8: Yaprak alanının % 51-75'ini etkileyen tipik yanıklık lekeleri, bazı yapraklar ölmüş, 9: Bütün yapraklar ölmüş.

Birinci ve ikinci yıl hastalık belirtilerinin görüldüğü dönemlerde yeşil aksam ilaçlaması yapılmıştır. Yeşil aksam uygulamasından sonra bitkilerden rastgele tekrar 50 yaprak alınarak 0-9 skalasına göre değerlendirilerek, Townsend-Heuberger'e göre hastalık şiddeti (%) ve Abbott formülü yardımı ile etkileri (%) belirlenmiştir. Hastalığın tanınması, patojenin bitkide oluşturduğu belirtiler göz önüne alınarak yapılmıştır. Belirtilerin patojene ait olduğunu doğrulamak için hastalık belirtisi gösteren bitki dokularından ve organlarından laboratuvarda izolasyonlar yapılarak, morfolojik tanısı ve patojenisite testleri gerçekleştirilmiştir.

Yeşil aksam ilaçlama sonrası, olgunlaşma döneminde uygulama yapılan ve yapılmayan parsellerin 4 farklı yerine atılan ¼ m²'lik çember içinde kalan tüm bitkiler, ilk yıl ekim ayının ikinci haftası, ikinci yıl ise eylül ayının son haftası olacak şekilde bir kez hasat işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir parselin 4 farklı yerine atılan ¼ m²'lik çember içinde kalan tüm bitkilerin salkımları kesilerek ayrı ayrı verimleri hesaplandıktan sonra farklı ilaçlama ve ekim yöntemlerinin, hastalığın kontrolü ve verime olan etkisi Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirilmiştir.

3. Bulgular

3.1. Tohum ilaçlaması ve ekim şeklinin hastalık şiddeti üzerine etkisi

Tohum ilaçlaması yapılan ve yapılmayan üretimde fide dikimi ve tohum ekiminin hastalık şiddeti üzerine etkisini belirlemek amacıyla kurulan deneme parsellerinde görülen ortalama hastalık şiddeti belirlenmiştir (Çizelge 3). Elde edilen bulgulara göre, ilk yıl üretim sezonunda en düşük hastalık şiddeti % 6.1 ile ilaçlı tohumla yapılan üretimde fide dikiminde görülürken, en yüksek hastalık şiddeti % 10.8 ile ilaçsız tohumla yapılan üretimde tohum ekiminde belirlenmiştir.

Çizelge 3. 2011 yılı tohum ilaçlaması ve ekim şeklinin hastalık şiddeti (%) üzerine etkisi

Uygulamalar	Fide Dikimi	Tohum Ekimi	Ortalama
İlaçlı Tohumla Yapılan Üretim	6.1	8.7	7.4a*
İlaçsız Tohum Yapılan Üretim	7.3	10.8	9.1b
Ortalama	6.7a	9.8b	

*Sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0.05) birbirinden önemli ölçüde farklıdır

İkinci yıl üretim döneminde ise en düşük hastalık şiddeti % 9.3 ile ilaçlı tohumla yapılan üretimde fide dikiminde görülürken, en yüksek hastalık şiddeti % 17.6 ile ilaçsız tohumla yapılan üretimde tohum ekiminde tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. 2012 yılı tohum ilaçlaması ve ekim şeklinin hastalık şiddeti (%) üzerine etkisi

Uygulamalar	Fide Dikimi	Tohum Ekimi	Ortalama
İlaçlı Tohumla Yapılan Üretim	9.3	13.3	11.3a*
İlaçsız Tohum Yapılan Üretim	12.1	17.6	14.9b
Ortalama	10.7a	15.5b	

*Sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0.05) birbirinden önemli ölçüde farklıdır.

Her iki yılda kurulan deneme parsellerinden elde edilen değerlerin birbirleri ile uyumlu olduğu ve yapılan varyans analizine göre (ANOVA) ekim şeklinin ve tohum ilaçlamasının önemli (P=0.05) olduğu, her ikisinin interaksiyonunun önemsiz (P= 0.05) olduğu bulunmuştur.

3.2. Yeşil aksam ilaçlaması ve ekim şeklinin hastalık şiddeti üzerine etkisi

Yeşil aksam ilaçlaması ve ekim şekillerinin hastalık şiddeti (%) üzerine etkisini belirlemek amacıyla 2011 ve 2012 yılı üretim döneminde deneme parsellerinde görülen ortalama hastalık şiddeti değerleri belirlenmiştir.

2011 yılı üretim döneminde en düşük hastalık şiddeti % 6.6 ile ilaçlı tohumdan üretilen fideler üzerinde yeşil aksam ilaçlama uygulamasında görülürken, en yüksek hastalık şiddeti değeri % 11.7 ile ilaçlı tohumla üretimi yapılan tohumla yeşil aksam ilaçlama yapılmayan uygulamada belirlenmiştir. 2011 yılı yetiştiricilik döneminde tohum veya fide dikimi şeklinde yapılan uygulama istatistiksel olarak farklı gruplarda yer almış olup, fide dikiminde % 7.9 ortalama değeri ile en az hastalık şiddeti elde edilirken, tohum ekimi şeklinde yapılan üretimde % 10.7 ortalama değeri ile en fazla hastalık şiddeti elde edilmiştir. Yeşil aksam ilaçlaması hastalık oluşumunu azaltmış ve yeşil aksam ilaçlaması yapılan parsellerle, yapılmayan parsellerde istatistiksel olarak hastalık şiddeti farklılık göstermiştir. Yeşil aksam ilaçlaması yapılan parsellerde hastalık şiddeti % 8.6 olurken, yeşil aksam ilaçlaması yapılmayan parsellerde hastalık şiddeti % 10 olarak kaydedilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. 2011 yılı yeşil aksam ilaçlaması ve ekim şeklinin hastalık şiddeti (%) üzerine etkisi

Uygulamalar		Fide Dikimi	Tohum Ekimi	Ortalama
Yeşil Aksam İlaçlaması (+)	İlaçlı Tohum	6.6	9.7	8.6a*
	İlaçsız Tohum	8.1	9.9	
Yeşil Aksam İlaçlaması (-)	İlaçlı Tohum	7.8	11.7	10.0b
	İlaçsız Tohum	9.0	11.3	
Ortalama		7.9a	10.7b	

*Sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0,05) birbirinden önemli ölçüde farklıdır.

2012 yılı yetiştiricilik döneminde en düşük hastalık şiddeti % 4.6 ile ilaçlı tohumdan üretilen fideler üzerinde gerçekleştirilen yeşil aksam ilaçlama uygulamasında görülürken, en yüksek hastalık şiddeti % 17.6 ile ilaçsız tohumla üretimi yapılan bitkilere yeşil aksam ilaçlama yapılmayan uygulamada belirlenmiştir. 2012 yılı üretim döneminde tohum veya fide dikimi şeklinde yapılan üretim istatistiksel olarak farklı gruplarda yer almış olup, fide dikiminde % 7.9 ortalama değeri ile en az hastalık şiddeti elde edilirken, tohum ekimi şeklinde yapılan üretimde % 11.1 ortalama değeri ile en fazla hastalık şiddeti elde edilmiştir. Yeşil aksam ilaçlaması hastalık oluşumunu azaltmış ve yeşil aksam ilaçlaması yapılan parsellerle yapılmayan parsellerde hastalık şiddeti istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Yeşil aksam ilaçlaması yapılan parsellerde hastalık şiddeti % 5.9 olurken, yeşil aksam ilaçlaması yapılmayan parsellerde hastalık şiddeti % 13.1 olmuştur (Çizelge 6).

Çizelge 6. 2012 yılı yeşil aksam ilaçlaması ve ekim şeklinin hastalık şiddeti (%) üzerine etkisi

Uygulamalar		Fide Dikimi	Tohum Ekimi	Ortalama
Yeşil Aksam İlaçlaması (+)	İlaçlı Tohum	4.6	5.9	5.9a*
	İlaçsız Tohum	5.5	7.4	
Yeşil Aksam İlaçlaması (-)	İlaçlı Tohum	9.3	13.3	13.1b
	İlaçsız Tohum	12.1	17.6	
Ortalama		7.9a	11.1b	

*Sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre (P=0,05) birbirinden önemli ölçüde farklıdır.

3.3. Farklı ilaçlama metodu ve ekim yöntemlerinin verim üzerine etkisi

Farklı ilaçlama metodu ve ekim şekillerinin verim üzerine etkisini belirlemek amacıyla 2011 ve 2012 yılı üretim dönemlerinde deneme parsellerinde ortaya çıkan ortalama verim değerleri belirlenmiştir.

2011 yılındaki çalışmadaki deneme parselinde en yüksek verim, fungusit uygulaması yapılan tohumda 803 g/m² olarak tespit edilirken en düşük verim fungusit uygulaması yapılmayan tohumda 668.2 g/ m² olarak belirlenmiştir (Çizelge 7).

Çizelge 7. 2011 yılı farklı ilaçlama metodu ve ekim yöntemlerinin verim (g/m^2) üzerine etkisi

Uygulamalar		Verim (g/m^2)		
		Fide Dikimi	Tohum Ekimi	Ortalama
Yeşil Aksam İlaçlaması (+)	İlaçlı Tohum	679.7	722.7	694.7a*
	İlaçsız Tohum	698.3	678.1	
Yeşil Aksam İlaçlaması (-)	İlaçlı Tohum	726.8	803.0	742.3a
	İlaçsız Tohum	771.3	668.2	
Ortalama		719.0a	718.0a	

*Sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre ($P=0,05$) birbirinden önemli ölçüde farklıdır.

2011 yılı üretim döneminde tohum veya fide dikimi şeklinde yapılan üretim istatistiksel olarak aynı gruplarda yer almış olup, fide dikiminde $719 g/m^2$ ortalama verim elde edilirken, tohum ekimi şeklinde yapılan üretimde $718 g/m^2$ ortalama verim elde edilmiştir. Yeşil aksam ilaçlaması yapılan parsellerde $694.7 g/m^2$ verim elde edilirken, yeşil aksam ilaçlaması yapılmayan parsellerde $742.3 g/m^2$ verim elde edilmiştir
2012 yılında en yüksek verim ilaçlı fide- ilaçlı yeşil aksamda $374.4 g/m^2$ en düşük verim ilaçsız tohum ekiminde $259.9 g/m^2$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 8).

Çizelge 8. 2012 yılı farklı ilaçlama metodu ve ekim yöntemlerinin verim (g/m^2) üzerine etkisi

Uygulamalar		Verim (g/m^2)		
		Fide Dikimi	Tohum Ekimi	Ortalama
Yeşil Aksam İlaçlaması (+)	İlaçlı Tohum	374.4	319.7	322.4a*
	İlaçsız Tohum	310.4	284.9	
Yeşil Aksam İlaçlaması (-)	İlaçlı Tohum	270.6	310.2	286.7a
	İlaçsız Tohum	305.9	259.9	
Ortalama		315.3a	293.7a	

*Sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre ($P=0,05$) birbirinden önemli ölçüde farklıdır.

2012 yılı üretim döneminde tohum veya fide dikimi şeklinde yapılan üretim istatistiksel olarak aynı gruplarda yer almış olup, fide dikiminde $315.3 g/m^2$ ortalama verim elde edilirken, tohum ekimi şeklinde yapılan üretimde $293.7 g/m^2$ ortalama verim elde edilmiştir. Yeşil aksam ilaçlaması yapılan parsellerde $322.4 g/m^2$ verim düzeyi saptanırken, yeşil aksam ilaçlaması yapılmayan parsellerde $286.7 g/m^2$ verim elde edilmiştir (Çizelge 8).

2011 ve 2012 yılı verileri birbirlerini destekler nitelikte olmuş ve yapılan varyans analizine göre (ANOVA) ekim şekli, ilaç uygulaması ve her ikisinin interaksiyonunun önemsiz ($P=0.05$) olduğu bulunmuştur.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma sonucunda; tohum ilaçlaması, ekim şekli ve yeşil aksam ilaçlamasının hastalık şiddeti üzerine etkili olduğu, verim üzerine etkisinin olmadığı belirlenmiştir. İlaçlı ve ilaçsız tohum ile yapılan üretimde en düşük hastalık şiddeti değerinin, ilaçlı tohumla yapılan üretimde olduğu tespit edilmiştir. Filippi ve Prabhu (1997) Brezilya'da çeltik yanıklık hastalığının kontrolü üzerinde tohuma fungusit uygulaması ve dayanıklı bitkilerin birleşik etkisi üzerine 2 yıl süre ile yaptıkları çalışmada, farklı dayanıklılık seviyesindeki çeltik çeşitlerine 4 g/kg tohum olacak şekilde pyroquilon etkili maddeli fungusitin ortalama yaprak yanıklığını 62 güne kadar ve fide devresinden sonra 47 güne kadar bastırıldığını belirlemesi çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir.

Tohum ilaçlaması yapılarak üretilen fideler ile tohum ilaçlaması yapılmadan üretilen fidelerin 25x20 cm aralıklarla dikimi sonucu; İlaçlanmış tohumdan elde edilen fidelerde en düşük hastalık şiddeti olduğu, bunun yanı sıra tohum ilaçlaması yapılmadan fide dikimi şeklinde yapılacak üretimde hastalık şiddetini düşürdüğü belirlenmiştir. Tropik kuşaklarda çeltik yanıklık hastalığının gelişimi ile çığın ilişkisini belirleme amacıyla yapılan boşluk çalışmalarında, 10x10cm, 20x20 cm ve 40x40 cm sıra arası ve sıra üzeri boşluk bırakılan parsellerde en fazla yanıklık lezyonunun 10x10 cm sıra aralığında en az yanıklık lezyonunun ise 40x40 cm sıra aralığında olduğu belirlenmiş ve bunun nedeninin 10x10 cm aralıkla oluşturulan parsellerdeki çığ süresinin en fazla, 40x40 cm aralıkta oluşturulan parsellerde ise en kısa oluşundan kaynaklandığı belirtilmiştir (El-Refai, 1977; IRRI, 1976).

Yeşil aksam ilaçlamasında en düşük hastalık şiddetinin; tohumdan üretilen fidelerin dikimi ile yapılan parsellerde olduğu, bu nedenle ilaçlı tohumdan üretilen fideler üzerine yapılacak yeşil aksam ilaçlamasının hastalığın yönetimi açısından çok önemli olduğu belirlenmiştir. Kapoor ve Singh (1982) *P. oryzae* etmeninin spor çimlenmesi ve apresoryum oluşumunu benomyl'in 1.94 ppm konsantrasyonunun etkili bir şekilde engellediği ve ilaçlamadan sonra 24-25 gün süreyle sistemik etkilerinin devam ederek fideleri koruduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, çalışmada belirlenen sonuçlarla örtüşmektedir.

Çalışma sonucunda; farklı ilaçlama metodu ve ekim şekillerinin verim üzerine etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Padmanabhan (1965) çeltik yanıklık hastalığının meydana getirdiği ürün kaybını tahmin etmek amacıyla; epidemiyoloji olan ve olmayan alanlarda, aynı verimi veren duyarlı ve dayanıklı çeşitler üzerine fungusit uygulaması yapılan ve yapılmayan deneme parsellerinde yaptığı çalışmada, tam bir karşılaştırmanın mümkün olmadığını, çünkü başka faktörlerinde bulunduğunu fakat % 1'lik boyun enfeksiyonunun % 1.4 oranında ürünü azalttığını belirtmiştir. Aynı zamanda burada, sepme ekim sonucu oluşacak yaprak ıslaklık sürelerindeki artış sonucu hastalık şiddetinde bir artış olmasına karşın, salkım saplarında enfeksiyon oluşmaması sonucu, yaprak enfeksiyonlarından kaynaklanacak verim kaybının serpme ekimle elde edilebilecek ilave ürün ile dengelendiği, bundan dolayı farklı ilaçlama metodu ve ekim şekillerinin verim üzerine bir etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır. Sezer ve ark. (2017) tane verimi yönünden ekim yöntemleri, çeşitler ve "Ekim yöntemi x Çeşit" interaksyonu arasındaki farkın çok önemli ($p < 0.01$) olduğunu belirtmişler ve serpme ekim yönteminde tane verimini 791.22 kg/da, fideleme ekim yönteminde ise 721.58 kg/da olarak belirlemişlerdir.

Sonuç olarak; çeltik yetiştirilen alanlarda üretimi kısıtlayan en önemli hastalıklardan biri olan çeltik yanıklık hastalığının yönetiminde ve şiddetini düşürmede tohum ilaçlamasının, fide dikiminin ve yeşil aksam ilaçlamasının önemli olduğu belirlenmiştir. İlaçlanmış tohumdan elde edilen fideler üzerine yapılacak yeşil aksam uygulamalarının hastalığın şiddetini düşürmede en etkin yöntem olduğu, bunun yanı sıra tohum ilaçlaması yapılmadan fide dikimi şeklinde yapılacak üretimde ilaçsız tohum ekimine göre hastalık şiddetini düşürdüğü belirlenmiştir.

Kaynakça

- Aktaş, H., & Tunalı, B. (1986). Türkiye'de ekimi yapılan ümitvar çeltik çeşitlerinin *Pyricularia oryzae* Bri. et. Cav., *Drechslera oryzae* Subram. ve *Fusarium moniliforme* Sheld.'ye karşı reaksiyonlarının saptanması. *Bitki Koruma Bülteni*, 26(1-2), 41-58.
- Anonim. (1995). VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül 1995 Adana, 16-20.
- Anonim. (1996). *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ziraî Mücadele Standart İlaç Deneme Metotları*. Cilt-II:18-21.

- Anonim. (2018a). FAO Rice Market Monitor (RMM), Volume XXI, Issue No. 11/38. <http://www.fao.org/3/I9243EN/i9243en.pdf> (Erişim tarihi: 09.03.2020).
- Anonim. (2018b). TÜİK. <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi: 09.03.2020)
- Anonim. (2020). Tarım ve orman bakanlığı bitki koruma ürünleri veritabanı. <https://bku.tarimorman.gov.tr/Arama/Index> (Erişim tarihi: 20.12.2020).
- Aravindan, S., Yadav, M.K., & Sharma, P. (2016). Biological control of rice blast disease with *Trichoderma* spp. under upland rice system. *Int J Ric.* 53(2), 167-173.
- Asibi, A.E., Qiang Chai, Q.C., & Coulter, J.A. (2019). Rice Blast: A Disease with Implications for Global Food Security. *Agronomy*, 9, 451.
- Chen, W.C., Chiou, T.Y., Delgado, A.L., & Liao, C.S. (2019). The Control of Rice Blast Disease by the Novel Biofungicide Formulations. *Sustainability* 11, 3449.
- De Datta, S.K. (1981). *Principles and Practise of Rice Production*. The International Rice Research Institute. Los Banos, The Philippines
- El-Refai, M.I. (1977). *Epidemiology of rice blast disease in the tropic with special reference to the leaf wetness in relation to disesae development*. Ph.D. thesis, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.
- Filippi, M.C., & Prabhu, A.S. (1997). Integrated effect of host plant resistance and fungicidal seed treatment on rice blast control in Brazil. *American Phytopathological Society Plant Disease*, 81, 351-355.
- Gohel, H.L., & Chauhan, H.L. (2015). Integrated management of leaf and neck blast disease of rice caused by *Pyricularia oryzae*. *Afr. J. Agric. Res.* 10, 2038–2040.
- IRRI. (1976). Annual Reports for 1964-79.
- Kapoor, A.S., & Singh, B.M. (1982). Evaluation of some fungicides fort he control of rice blast. *Indian Phytopathol.*, 35(4), 558-561.
- Kongcharoen, N., Nipon Kaewsalong, N., & Dethoup, T. (2020). Efficacy of fungicides in controlling rice blast and dirty panicle diseases in Thailand. *Scientific Reports* 10, 16233.
- Nalley, L., Tsiboe, F., Durand-Morat, A., Shew, A., & Thoma, G. (2016). Economic and environmental impact of rice blast pathogen (*Magnaporthe oryzae*) alleviation in the United States. *PLoS ONE* 11, e0167295.
- Ou, S.H. (1985). *Rice Diseases*. 2nd Ed. CAB International Mycological Institute, UK.
- Padmanabhan, S.Y. (1965). Estimating losses from rice blast in India. *The Rice Blast Disease*, 203-221. Baltimore, Maryland; Johns Hopkins Press.
- Sezer, İ., Şenocak, H.S., & Akay, H. (2017). Bazı Çeltik Çeşitlerinde Fideleme ve Serpme Ekim Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 20 (Özel Sayı), 292-296.



Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science

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



Research Article

Cost Efficiency Status of Rice Farmers Participating in IFAD/VCD Programme in Niger State of Nigeria

Mohammed Sanusi SADIQ*¹, Invinder Paul SINGH², Muhammad Makarfi AHMAD³

¹Federal University Dutse, Faculty of Agric., Dep. of Agricultural Economics and Extension, Dutse, Nigeria

²S.K. Rajasthan Agricultural University, College of Agriculture, Dep. of Agricultural Economics, Bikaner, India

³Bayero University Kano, Department of Agricultural Economics and Extension, P.M.B. 3011, Kano, Nigeria

¹<https://orcid.org/0000-0003-4336-57231> ²<https://orcid.org/0000-0002-1886-5956> ³<https://orcid.org/0000-0003-4565-0683>

*Corresponding author e-mail: sadiqsanusi30@gmail.com

Article Info

Received: 05.06.2020

Accepted: 21.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.748367

Keywords

Cost efficiency,
Frontier,
IFAD,
Nigeria,
Rice,
Stochastic.

Abstract: This research empirically determined the cost efficiency of the farmers that participated in the IFAD/VCD programme in Niger State of Nigeria. The study elicited cross-sectional data of the 2018 cropping season *viz.* well-structured questionnaire complemented with interview schedule from a sample size of 110 respondents selected through a multi-stage sampling technique. The sampled data were analysed using the stochastic cost frontier model. The empirical evidence showed that none of the farmers was on the cost frontier surface *i.e.* inability to attain optimal minimum cost in the cultivation of rice in the studied area. The identified significant idiosyncratic variables militating against cost efficiency were the poor health status of the farm family which led to the extra cost incurred in labour substitution and diseconomies of scale due to their small-scale mode of operation. Therefore, the study recommends that the policymakers should sensitize the farmers on the importance of health preventive measures and should endeavour to improve on the existing basic health centres both in human capital and logistics. In addition, the farmers should be encouraged to explore cooperative marketing so as to take advantage of the bulk discount in input purchase and have bargaining power in the marketing of their output, thus tackling the problem of diseconomies of scale in their farm operations.

Nijerya'nın Nijer Devletinde IFAD / VCD Programına Katılan Pirinç Çiftçilerinin Maliyet Verimliliği Durumu

Makale Bilgileri

Geliş: 05.06.2020

Kabul: 21.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.748367

Anahtar Kelimeler

Maliyet etkinliği,
Sınır,
IFAD,
Nijerya,
Pirinç,
Stokastik.

Öz: Bu araştırma, Nijerya'nın Nijer Eyaleti'ndeki IFAD / VCD programına katılan çiftçilerin maliyet etkinliğini ampirik olarak belirlemiştir. Çalışma, çok aşamalı bir örnekleme tekniği ile 110 katılımcıdan oluşan bir örnekleme büyüklüğünden seçilen röportaj usulü ile tamamlanan iyi yapılandırılmış bir anket ile 2018 üretim sezonunun çapraz kesit verilerini ortaya çıkardı. Örneklenen veriler, stokastik maliyet sınır modeli kullanılarak analiz edilmiştir. Ampirik kanıtlar, çiftçilerden hiçbirinin maliyet sınırında olmadığını, yani incelenen alanda pirinç ekiminde ideal minimum maliyete ulaşamadığını göstermiştir. Maliyet verimliliğine engel olan belirgin kendine özgü değişkenler, işçi ikamesinde katlanılarak ekstra maliyete yol açan çiftlik ailesinin kötü sağlık durumu ve küçük ölçekli çalışma biçimleri nedeniyle ölçek ekonomileriydi. Bu nedenle çalışma, politika yapıcılarının çiftçileri sağlığı koruyucu önlemlerin önemi konusunda duyarlı hale getirmelerini ve hem beşeri sermaye hem de lojistik alanlarda mevcut temel sağlık merkezlerini iyileştirmek için çaba göstermeleri

gerektiğini önermektedir. Buna ek olarak, çiftçiler, girdi satın alımında toplu indirimden yararlanmak ve çıktılarının pazarlanmasında pazarlık gücüne sahip olmak ve böylece çiftlik faaliyetlerindeki ölçek ekonomisi sorununu çözmek için kooperatif pazarlamayı keşfetmeye teşvik edilmelidir.

1. Introduction

Farming in Nigeria has been on the subsistence scale given that the bulk of the producers are resource-poor. The most viable chance of breaking the vicious cycle of poverty affecting these farmers is to transit them to a sustainable farming system. The imperfection in the markets has made it difficult for these resource-poor farmers to keep-up with the going concern of their firm enterprises, thus worsening their livelihood and food security of the studied area in particular and the country in general.

The essence of the IFAD-VCD programme is to secure the livelihood of the rural populace particularly the weaker section so that they can break the vicious cycle of poverty. The feasibility of Nigeria's economic growth and development depends largely on empowering the rural poor communities *viz.* identifications of their needs and implementations of broad based agricultural and rural development initiatives. The failure to sustain most of the agricultural projects in the studied area is not due to lack of interest of the target groups in farming but rather poor productivity of capital investment which is not remunerative to sustain the livelihood of the beneficiaries more less the business going concern. The rationality of any farmer in enterprise allocation solely lies on the cost of production which is a function of the market prices of inputs and outputs, a condition which the farmers have little or no control over. Thus, the business concern of a farmer to continue or pull-out from the business of crop farming depends on cost.

For the study area to achieve rice food security and alleviate poverty which is the goal of the programme, it is important to identify the factors that affect farmers' cost efficiency in rice production and further measure the extent to which they limit the cost efficiency of the decision units. In view of the foregoing, this research was conceptualized with the aim of having a clearer understanding of cost efficiency and the feasibility of predicting the allocative efficiency of the target groups in the studied area.

Therefore, for the IFAD programme not to be a fail project, it becomes very imperative to determine the cost efficiency status of the farmers participating in the programme in Niger State of Nigeria using the parametric cost frontier model. Ogundari et al.(2006); Paudel and Matsuoka (2009); and, Sadiq and Singh (2016) have opined that improvement in the understanding of farmers' status of cost efficiency and its interlink with their idiosyncratic covariates would greatly assist policymakers in promulgating efficiency enhancing policies as well as judging the efficiency of the current and previous reforms.

2. Materials and Methods

Niger State is located in Nigeria a sub of Africa continent and it lies between latitudes 8°20'N and 11°30'N of the equator and longitudes 3°30'E and 7°20'E of the Greenwich Meridian time. The vegetation of the state is northern guinea savannah with sparse of southern guinea savannah around Mokwa Local Government Area (LGA). Agriculture is the major occupation in the study area and it's complemented with civil service jobs, artisanal, craftwork, *Ayurveda* medicines and petty trade. The study made use of a multi-stage sampling technique to draw a sample of 110 active participants in the programme. In the state, the programme is currently mounted in five (5) LGAs with Agricultural Zone A (Bida) and C (Kontagora) having two LGAs each namely Bida and Katcha; and, Wushishi and Kontagora, respectively, while Zone B has one participating LGA *viz.* Shiroro. In the first stage, Katcha was randomly selected from Zone A while Shiroro LGA was automatically selected being the only participating LGA in Zone B. Wushishi LGA due to its comparative advantage in rice production throughout the year owing to the presence of Tungan Kawo irrigation dam was purposively selected from the Agricultural Zone C. In the second stage, two villages were randomly selected from each of the chosen LGAs. Thereafter, two active co-operative associations from each of the selected villages were randomly selected. It is worth to note that Microsoft excel inbuilt random sampling mechanism

was used for the random selections of the villages and the co-operative associations. In the last stage, using the sampling frame obtained from IFAD/VCD office (Table 1), the Cochran's formula was used to determine the representative sample size. Thus, a total of 110 active rice farmers form the sample size for the study. A well-structured questionnaire complemented with interview schedule was used to elicit information from the respondents during the 2018 cropping season, and stochastic cost frontier model was used to analyse the collected data. The Cochran's formula used is shown below:

$$n_a = \frac{n_r}{1 + \frac{(n_r - 1)}{N}} \quad (1)$$

$$n_r = \frac{(1.96)^2 pq}{e^2} \quad (2)$$

Where:

n_a = adjusted sample size for finite population

n_r = sample size for infinite population

N = population size

Np = proportion of population having a particular characteristic

$Nq = 1 - p$

e^2 = error gap (0.07)

Thus, $p = 0.40$ and $q = 1 - 0.60 = 0.40$

Table 1. Sampling frame of participating farmers

LGAs	Villages	Co-operative Associations	SF	SS
	Baddegi	Managi Badeggi Farmers CMPS	24	10
		Aminci Ebanti Twaki CMPS Ltd	25	10
Katcha	Edostu	Edotsu Co-Operative Credit & Marketing CMPS	25	10
		Edotsu JinjinWugakunYema CMPS	25	10
Shiroro	Baha	Baha Abmajezhin Cooperative Multi-Purpose Society Ltd	15	7
		Abwanubo Najeyi Development Association	18	8
		Paigado Achajebwa Development Farmers Soc.	25	10
	Paigado	Paigado Farmers Cooperative Society Ltd	25	10
		Bankogi Alheri Farmers Coop. Multipurpose Soc Ltd	22	9
Wushishi	Kanko	Bankogi GwariNasara CMPS	16	7
		Kanko Arewa Farmers	25	10
		Kanko Unguwar Ndakogi Cooperative Multipurpose Society Ltd	25	10
Total			270	111

Source: IFAD-VCDP farmers' database, 2018.

Note: SF and SS mean sampling frame and sample size respectively.

2. Material and Methods

2.1 Model specification

Stochastic Cost Frontier Function: Following Battesse and Coelli (1995); Ogdari et al. (2006); Sadiq and Isah (2015); Sadiq and Singh (2016) and Sadiq and Samuel (2016), the adopted stochastic cost frontier (SCF) function is shown below:

$$C_i = f(P_{ij}, Y_{ij}; \beta) + (V_i + U_i) \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (3)$$

C_i = Total production cost of the i^{th} farmer;

P_i = Vector prices of the actual j^{th} inputs used by the i^{th} farmer;

Y_i = Vector of the actual j^{th} output of the i^{th} farmer;

β_i = parameter to be estimated;

V_i = Uncertainty which is beyond the control of the i^{th} farmer; and,
 U_i = Risk which is attributed to the error of the i^{th} farmer;

Positive sign preceded the composite error term because inefficiency is always assumed to increase cost.

Given the level of technology at the disposal of a technical unit, the cost efficiency is expressed as the ratio of the observed cost (C^b) to the corresponding minimum cost (C^{min}), and it is given below:

$$C_e = \frac{C^b}{C^{min}} = \frac{f(P_{ij}, Y_{ij}; \beta) + (V_i + U_i)}{f(P_{ij}, Y_{ij}; \beta) + V_i} = \exp(U_i) \quad (4)$$

Where C_e is the cost efficiency and takes the value of ≥ 1 with 1 defining cost efficient technical unit. The observed cost (C^b) represents the actual total cost while the minimum cost (C^{min}) represents the frontier total cost or the least total cost level.

The explicit form of the Cob-Douglas functional form of the SCF function is as follow:

$$\ln C_i = \ln \beta_0 + \sum \beta_k \ln P_{ij} + \beta_l \ln Y_{ij} + V_i + U_i \quad (5)$$

Where C_i = Total production cost of i^{th} farmer; P_i = Vector of unit prices of farm inputs used: P_1 = unit price of seed (₦/kg), P_2 = unit price of NPK fertilizer (₦/kg), P_3 = unit price of urea fertilizer (₦/kg), P_4 = unit price of herbicides (₦/litre), P_5 = unit price of human labour (₦/man-day), P_6 = depreciation on capital items (₦), and P_7 = rental value of land (₦/hectare); Y_i = Farm output (kg) from i^{th} farmer; V_i = random variability in the production that cannot be influenced by the i^{th} farmer also known as uncertainty; U_i = deviation from maximum potential output attributable to cost inefficiency and also known as risk. β_0 = intercept; β_k = vector of cost parameters to be estimated; β_l = vector of output parameter to be estimated; $i = 1, 2, 3 \dots \dots n$ farmers; $j = 1, 2, 3 \dots \dots m$ inputs.

The inefficiency model is:

$$U_i = \delta_0 + \delta_1 Z_1 + \delta_2 Z_2 \dots \dots \dots + \delta_n Z_n \quad (6)$$

Where Z_1 = Educational level (year); Z_2 = Sickness of farm family member (number); Z_3 = Extension visit (number); Z_4 = Access to credit (yes =1, no = 0); Z_5 = Age (year); Z_6 = Household size (number); Z_7 = Income (yes =1, no = 0); Z_8 = Farm size (hectare); Z_9 = Farming experience (year); Z_{10} = Non-farm income (yes =1, no = 0); Z_{11} = Language spoken (number); δ_0 = intercept; and, δ_{1-n} = parameters to be estimated.

A Frontier version 4.1 was used for the stochastic cost efficiency estimation.

3. Results

3.1 Cost efficiency of IFAD rice farmers

A cursory review of the maximum likelihood estimates (MLE) of the stochastic cost frontier function showed the variance parameters viz. sigma and gamma (0.8631) to be different from zero at 10% degree of freedom. The implication of the significance of the sigma-squared and gamma indicate the goodness of fit of the specified SCF and the correctness of the composite error term; and the presence of the cost inefficiency, respectively. Therefore, it can be inferred that the differences in the cost efficiencies of the sampled farmers accounted for 86.31% variation in the total cost (Table 2). In addition, the calculated log-likelihood ratio test being greater than the tabulated Chi² indicates the presence of one-sided error, thus an indication that the traditional response function (OLS) cannot fit the data (Table 3).

Furthermore, with the exception of seed price all the parameter estimates (capital and labour costs) induced monotonicity in the cost function as evident by the positive sign associated with their coefficients (Table 2). The non-monotonicity of the seed price coefficient is an indication of congestion in the use of seed input which owes to the provision of subsidy, thus the negative sign associated with

the seed price coefficient. The empirical evidence showed that the total cost incurred in the production of rice was influenced by seed cost, costs of agrochemicals, rental cost and rice output as indicated by their respective probability levels which were different from zero at 10% degree of freedom.

The negative significance of the seed cost coefficient implied that improved rice seed varieties were sold to the farmers at subsidized price, thus the non-monotonicity of the total cost despite increase in the seed cost. The elasticity of the significant parameter estimates *viz.* NPK fertilizer cost, cost of urea fertilizer, cost of herbicides, rental fees and output (kg) being positive implies that the total cost increase monotonically with an increase in the prices of these inputs and the only output parameter included in the SFC. Thus, a percent increase in the prices of NPK fertilizer, urea fertilizer, herbicides and land rental fee each would increase the total cost of production by 33.39%, 43.22%, 36.56% and 29.48%, respectively. Besides, a percent increase in the output level of rice would increase the total cost by 35.86%. The non-significance of the human labour and depreciation on capital items implied that the farmers relied on excess available family labour which is free of cost and incurred negligible costs on the fixed capital as they used primitive implements in the production of rice.

It was observed that the farmers despite operating in the rational stage *i.e.* decreasing return to scale they were experiencing diseconomies of scale as indicated by the economies of scale (ES) index of -3.84. This did not come as a surprise as these farmers are resource-poor who cultivate rice on small-scale basis, thus an increase in the output will increase the cost of production. This finding is contrary to the Schultz's efficient hypothesis for poor farmers, that in their resource allocation behaviour under traditional agricultural setting they are efficient giving the available technology at their disposal (Schultz, 1964; Ogundari et al., 2006; Sadiq and Singh, 2016).

Furthermore, it was observed that cost efficiency is influenced by sickness of household member, household size, farm size and number of language spoken as evident from their respective parameter estimates which were different from zero at 10% degree of freedom. The positive significance of the coefficient for sickness of household member implied that a farmer with a health challenge affecting his household incurred extra labour cost due to substitution of family labour with hired labour, thus affecting the cost efficiency of the farmer. Thus, a farm family having a sick fellow will have his/her cost inefficiency increased by 0.214%. The negative significance of the household size coefficient implied that farmers with large household size composed of able-bodied people incurred less cost on labour due to access to free labour, thus an increase in their cost efficiency. Thus, a unit increase in the farm family household size by one person would lead to a decrease in his/her cost inefficiency by 0.075%. The positive significance of the farm size revealed that farmers with large farm size experienced diseconomies of scale, thus affecting their cost efficiency. Therefore, the implication of a unit increase in the farm size by one hectare would lead to an increase in cost inefficiency by 1.655%. The negative significance of the parameter estimates for language spoken implied that farmers who understand or speak more than one lingua had access to information concerning innovative and appropriate practices of allocation of farm inputs, thus making them more cost efficiency than their counterpart who understands only one language. Thus, the tendency of a farmer to speak more than one language would increase his/her cost efficiency by 0.469%.

A perusal of the cost efficiency scores showed the average cost efficiency to be 1.218 while the best and worse cost inefficiency scores were 1.025 and 2.305, respectively (Table 4). Therefore, the implication is that the average, best and worse cost inefficiency farmers incurred an extra cost of 21.8%, 2.5% and 130.5% respectively relative to the best practiced farm producing the same output and facing the same technology at their disposal. In nominal value, it translates into ₦20600.51, ₦1484.39 and ₦107948.10 for the average, best and worst inefficient farms respectively (Table 5). The individual-wise results showed the potential minimum cost expected of each farm and the wasted incurred cost that need to be averted for the inefficiency farms so as to optimize profit in the short-run (Table 5). The frequency distribution of the cost efficiency scores showed none of the farmers to be on the frontier as evident by their respective cost efficiency scores which were above the frontier score of 1.00. It was observed that majority (53.6%) of the farmers had their efficiency scores close to the frontier level while very few (3.6%) of the respondents recorded an efficiency scores that are farther from the frontier surface. Similar result was found by Yakubu (2017) in his study on economic efficiency of small-scale rice farmers in Kwara State of Nigeria. However, in maize crop, Sadiq and Singh (2016); Paudel and Matsuoka (2009) and Ogundari et al. (2006) observed similar result in their respective studied areas.

Table 2. MLE of the stochastic cost frontier of IFAD rice farmers

Variable	Coefficient	Standard error	t-statistic
Deterministic model			
Constant	1.06895	0.99335	1.076 ^{NS}
Seed (₦)	-0.24035	0.078993	3.043***
NPK fertilizer (₦)	0.33385	0.134949	2.473**
Urea fertilizer (₦)	0.43218	0.123087	3.511***
Herbicides (₦)	0.36561	0.141361	2.586**
Human labour labour (₦)	0.119099	0.074115	1.606 ^{NS}
Rent value of land (₦)	0.294837	0.0885465	3.329***
Depreciation on cap. (₦)	0.042828	0.0427875	1.001 ^{NS}
Output (kg)	0.3585499	0.196904	1.820*
Inefficiency model			
Constant	-3.00142	1.05781	2.837***
Education	0.032828	0.03319	0.988 ^{NS}
Illness of member	0.21368	0.11938	1.789*
Extension visit	0.03062	0.058304	0.525 ^{NS}
Access to credit	-0.08388	0.3113	0.269 ^{NS}
Age	0.009622	0.02615	0.368 ^{NS}
Household size	-0.074497	0.05432	1.372 ^{NS}
Income	0.35555E-06	0.41535E-06	0.856 ^{NS}
Farm size	1.65495	0.31176	5.308***
Farming Experience	-0.008799	0.02537	0.347 ^{NS}
Non-farm income	0.051108	0.33811	0.151 ^{NS}
Language spoken	-0.46844	0.27972	1.675*
Variance parameters			
Sigma-squared(σ^2)	0.15649	0.04682	3.342***
Gamma (γ)	0.86307	0.044471	1.941**

Source: Field survey, 2018.

*, **, *** and ^{NS} means significance at 10%, 5%, 1% and non-significant respectively.

Table 3. Generalized likelihood ratio test of hypothesis for parameters of SCFF

H_o	Log likelihood function	λ	Critical (5%)	Decision
$\gamma = 0$	23.602	21.05	16.91	$\gamma \neq 0$

Source: Field survey, 2018.

Table 4. Frequency distribution of cost efficiency scores

Efficiency level	Frequency	Relative efficiency %
1.00-1.09	59	53.63636
1.10-1.19	18	16.36364
1.20-1.29	10	9.090909
1.30-1.39	4	3.636364
1.40-1.49	4	3.636364
1.50-1.59	3	2.727273
1.60-1.69	3	2.727273
1.70-1.79	2	1.818182
1.80-1.89	2	1.818182
1.90-1.99	1	0.909091
≥ 2.00	4	3.636364
Total	110	100
Mean	1.218	
Maximum	2.305	
Minimum	1.025	
Standard deviation	0.271	

Source: Field survey, 2018.

Table 5. Individual-wise CES, Actual cost, Frontier cost and wasted cost

Farm	CES	Actual	Frontier	WC	% WC	Farm	CES	Actual	Frontier	WC	% WC
FM1	1.147	101878	88821.27	13056.73	12.81604	FM31	1.051	81028	77096.1	3931.901	4.852521
FM2	1.113	80138	72001.8	8136.203	10.15274	FM32	1.069	87877.5	82205.33	5672.168	6.45463
FM3	1.662	251170	151125.2	100044.8	39.83153	FM33	1.058	88180	83345.94	4834.064	5.482042
FM4	1.078	117802	109278.3	8523.707	7.235622	FM34	1.103	109225	99025.39	10199.61	9.338169
FM5	1.466	172935	117963.8	54971.15	31.78718	FM35	1.449	162670	112263.6	50406.37	30.98689
FM6	1.066	118750	111397.7	7352.251	6.19137	FM36	1.051	98844	94047.57	4796.426	4.852521
FM7	1.064	110810	104144.7	6665.263	6.015038	FM37	1.087	101500	93376.26	8123.735	8.00368
FM8	1.092	125364	114802.2	10561.8	8.424908	FM38	1.087	117453	108052.4	9400.562	8.00368
FM9	2.123	303630	143019.3	160610.7	52.89684	FM39	1.056	96130	91032.2	5097.803	5.30303
FM10	1.495	206164	137902.3	68261.66	33.11037	FM40	1.06	90705	85570.75	5134.245	5.660377
FM11	1.058	106340	100510.4	5829.603	5.482042	FM41	1.077	84087	78075.21	6011.791	7.149489
FM12	1.07	95722.77	89460.54	6262.237	6.542056	FM42	1.395	101340	72645.16	28694.84	28.31541
FM13	1.109	114145.5	102926.6	11218.99	9.828674	FM43	1.074	90420	84189.94	6230.056	6.89013
FM14	1.141	99182.77	86926.18	12256.59	12.35758	FM44	1.039	45610	43897.98	1712.021	3.753609
FM15	2.016	277590	137693.5	139896.5	50.39683	FM45	1.051	68245	64933.4	3311.603	4.852521
FM16	1.227	124260	101271.4	22988.61	18.50041	FM46	1.067	58396	54729.15	3666.853	6.279288
FM17	1.039	66505	64008.66	2496.338	3.753609	FM47	1.035	74920	72386.47	2533.527	3.381643
FM18	1.121	109085.5	97310.92	11774.62	10.79393	FM48	1.074	102725	95647.11	7077.886	6.89013
FM19	1.57	215878	137501.9	78376.09	36.30573	FM49	1.095	83250	76027.4	7222.603	8.675799
FM20	1.508	165909	110019.2	55889.77	33.687	FM50	1.04	85190	81913.46	3276.538	3.846154
FM21	1.103	114570	103871.3	10698.74	9.338169	FM51	1.111	77755	69986.5	7768.501	9.990999
FM22	1.395	203565	145924.7	57640.27	28.31541	FM52	1.656	121800	73550.72	48249.28	39.61353
FM23	1.17	139235	119004.3	20230.73	14.52991	FM53	1.1	84050	76409.09	7640.909	9.090909
FM24	1.069	84440	78989.71	5450.29	6.45463	FM54	1.073	97500	90866.73	6633.271	6.803355
FM25	1.086	100820	92836.1	7983.904	7.918969	FM55	2.021	151600	75012.37	76587.63	50.51954
FM26	1.047	96930	92578.8	4351.203	4.489016	FM56	1.11	104945.5	94545.54	10400.01	9.90991
FM27	1.046	76930	73546.85	3383.155	4.397706	FM57	1.078	111525	103455.5	8069.527	7.235622
FM28	1.417	159760	112745.2	47014.76	29.42837	FM58	1.098	110165	100332.4	9832.577	8.925319
FM29	1.855	209695	113043.1	96651.87	46.09164	FM59	1.058	95145.55	89929.63	5215.918	5.482042
FM30	1.074	95280	88715.08	6564.916	6.89013	FM60	1.15	111310	96791.3	14518.7	13.04348

Source: Field survey, 2018.

Table 5 (continuation). Individual-wise CES, Actual cost, Frontier cost and wasted cost

Farm	CES	Actual	Frontier	WC	% WC	Farm	CES	Actual	Frontier	WC	% WC
FM61	1.063	115645.5	108791.7	6853.875	5.926623	FM87	1.05	77760	74057.14	3702.857	4.761905
FM62	1.044	64900	62164.75	2735.249	4.214559	FM88	1.045	75700	72440.19	3259.809	4.30622
FM63	1.034	64540	62417.79	2122.205	3.288201	FM89	1.056	79950	75710.23	4239.773	5.30303
FM64	1.025	60860	59375.61	1484.39	2.439024	FM90	1.049	61280	58417.54	2862.459	4.671115
FM65	1.048	68300	65171.76	3128.244	4.580153	FM91	1.134	108770	95917.11	12852.89	11.81658
FM66	1.168	99485.55	85175.98	14309.56	14.38356	FM92	1.0617	85140	80192.14	4947.855	5.811434
FM67	1.075	86700	80651.16	6048.837	6.976744	FM93	1.134	120900	106613.8	14286.24	11.81658
FM68	1.353	109845.5	81186.66	28658.89	26.09017	FM94	1.056	81600	77272.73	4327.273	5.30303
FM69	1.085	105740	97456.22	8283.779	7.834101	FM95	1.047	78780	75243.55	3536.447	4.489016
FM70	1.201	84220	70124.9	14095.1	16.73605	FM96	1.134	125500	110670.2	14829.81	11.81658
FM71	1.034	58000	56092.84	1907.157	3.288201	FM97	1.0559	87690	83047.64	4642.363	5.294062
FM72	1.089	95620	87805.33	7814.674	8.172635	FM98	1.967	196400	99847.48	96552.52	49.16116
FM73	1.39	114955	82701.44	32253.56	28.05755	FM99	1.299	278400.8	214319.3	64081.47	23.01771
FM74	1.041	62940	60461.1	2478.905	3.938521	FM100	2.305	190667	82718.87	107948.1	56.61605
FM75	1.099	106990	97352.14	9637.862	9.008189	FM101	1.092	74390	68122.71	6267.289	8.424908
FM76	1.737	182280	104939.6	77340.45	42.42948	FM102	1.274	123310	96789.64	26520.36	21.50706
FM77	1.057	105510	99820.25	5689.754	5.392621	FM103	1.1595	145000	125053.9	19946.1	13.75593
FM78	1.273	153140	120298.5	32841.49	21.4454	FM104	1.2052	161880	134318	27562.04	17.02622
FM79	1.064	90017	84602.44	5414.556	6.015038	FM105	1.861	154638	83094.04	71543.96	46.26545
FM80	1.058	80838	76406.43	4431.573	5.482042	FM106	1.601	141230	88213.62	53016.38	37.53904
FM81	1.2495	146260	117054.8	29205.18	19.96799	FM107	1.101	90338	82050.86	8287.137	9.173479
FM82	1.222	125220	102471.4	22748.64	18.16694	FM108	1.297	112458	86706.25	25751.75	22.899
FM83	1.047	70540	67373.45	3166.552	4.489016	FM109	1.282	145330	113361.9	31968.07	21.99688
FM84	1.515	146092	96430.36	49661.64	33.9934	FM110	1.738	142564	82027.62	60536.38	42.4626
FM85	1.078	93040	86307.98	6732.022	7.235622	Mean	1.218	115098.3	94497.77	20600.51	17.89819
FM86	1.077	91380	84846.8	6533.203	7.149489						

Source: Field survey, 2018.

Note: CES = Cost efficiency score; WC = Wasted cost.

4. Discussion and Conclusion

From the foregoing findings, it can be inferred that the farmers were not efficient in minimizing their farm costs which was largely due to health challenge of the farm family and diseconomies of scale which owed to their mode of operation i.e. small-scale holdings. Furthermore, all the sampled farms experienced cost wastage relative to the best practiced farm producing the same output using the same available technology in the studied area. Therefore, it was recommended that both public and private institutions should sensitize the farmers on the importance of health preventive measures, improvise basic health centres with adequate staffing of health personnel, and affordable and subsidized medications. In addition, the farmers should be enlighten on the importance of social capital *viz.* co-operative marketing in order to benefit from pecuniary advantages, thus addressing the problem of diseconomies of scale.

References

- Battese, G.E., & Coelli, T.J. (1995). A model for technical inefficiency effects in stochastic frontier production for panel data. *Empirical Economics*, 20, 325-345.
- Ogundari, K., Ojo, S.O., & Ajibefun, I.A. (2006). Economics of scale and cost efficiency in small-scale maize production: Empirical evidence from Nigeria. *Journal of Social Sciences*, 13(2), 131-136.
- Paudel, P., & Matsuoka, A. (2009). Cost efficiency estimates of maize production in Nepal: A case study of the Chitwan District. *Agricultural Economics-Czech*, 55(3), 139-148.
- Sadiq, M.S., & Isah, M.A. (2015). Neoclassical test of cost efficiency in sorghum production among small-scale farmers in Niger State, Nigeria. *International Journal of Tropical Agriculture*, 3(2), 423-431.
- Sadiq, M.S., & Samuel, P.E. (2016). Lucid investigation of cost efficiency of small-scale poultry broiler farms in Niger State of Nigeria. *International Journal of Innovative Research and Review*, 4(4), 9-23.
- Sadiq, M.S., & Singh, I.P. (2016). Empirical analysis of economics of scale and cost efficiency of small-scale maize production in Niger state, Nigeria. *Indian Journal of Economics and Development*, 12(1), 55-63.
- Shultz, T. W. (1964). *Transforming Traditional Agriculture*. New Haven: Yale University Press.
- Yakubu, G. (2017). *Economic efficiency of small-scale rice farmers in Kwara State of Nigeria*. A B.Tech. Thesis submitted to the Department of Agricultural Economics and Extension Technology, Federal University of Technology, Minna, Nigeria



Araştırma Makalesi (Research Article)

Antimicrobial and Antioxidant effect of *Ficaria verna* Huds.

Şule İNCİ*¹, Ayşe EREN², Sevda KIRBAĞ³, Ahmet İsmail ÖZKAN⁴

^{1,3} Fırat University, Science Faculty, Department of Biology, 23270, Elazığ, Turkey

^{2,4} Dicle University, Science Faculty, Department of Molecular Biology and Genetics, Diyarbakır, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-4022-5269> ²<https://orcid.org/0000-0002-5601-6808> ³<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-4511-2386>

*Sorumlu yazar e-posta: sule.inci@hotmail.com

Article Info

Received: 09.11.2020

Accepted: 23.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.823401

Keywords

Antimicrobial effect,
Antioxidant effect,
Ranunculus ficaria,
Medical plant.

Abstract: *Ficaria verna* Huds. is a plant belonging to the Ranunculaceae family, known as mole grass and celandine among the people. It is known to have anti-inflammatory and anti-haemorrhagic pharmaceutical effects. In this study, it was aimed to determine the antimicrobial effect of different concentrations of *F. verna* extracts obtained from methanol, ethanol and chloroform and the antioxidant activity of different concentrations of the extract obtained from methanol. In the results obtained, the best antimicrobial effect (17-20 mm) against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus megaterium*, *Salmonella thypii* and *Candida albicans* was determined in the methanol extract of *F. verna* at a concentration of 1000 µg. It was observed that the scavenging effect of the DPPH radical of *F. verna* increased depending on increasing concentrations.

Ficaria verna Huds.'nin Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkisi

Makale Bilgileri

Geliş: 09.11.2020

Kabul: 23.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.823401

Anahtar kelimeler

Antimikrobiyal etki,
Antioksidan etki,
Ranunculus ficaria,
Tıbbi bitki.

Öz: *Ficaria verna* Huds. halk arasında köstebek otu ve kırlangıç otu adıyla bilinen ve Ranunculaceae familyasına ait bir bitkidir. Antienflamatuar ve antihemorajik gibi farmasötik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Halk arasında hemoroide karşı kullanılmaktadır. Bu çalışmada *F. verna*'nın metanol, etanol ve kloroformdan elde edilen ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının antimikrobiyal etkisi ile metanoldan elde edilen ekstresinin farklı konsantrasyonlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlarda *F. verna*'nın metanol ekstresi 1000 µg konsantrasyonda *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus megaterium*, *Salmonella thypii* ve *Candida albicans*'a karşı en iyi antimikrobiyal etki (17-20mm) göstermiştir. *F. verna*'nın DPPH radikalinin süpürücü etkisinin artan konsantrasyonlara bağlı arttığı gözlemlenmiştir.

1. Introduction

Plants are used in different ways depending on the disease since ancient times and are considered as natural medicines (Durdevic et al., 2013). Mankind was discovered this healing effect of plants long ago and continues to use it today (Altay et al., 2015; Ozaslan and Oguzkan, 2018). Especially, with the increasing number of diseases, side effects of drugs and the lack of adequate response in treatment, the use of natural medicines of herbal origin is increasing (Doğan and Avcı, 2018). Herbal preparations are

known to have pharmacological effects such as anticancer, antimicrobial, antioxidant, anti-diarrhea, analgesic and wound healing (Karahana and İlçim 2008; Karahana et al., 2016; Ozaslan and Oguzkan, 2018; Karahana et al., 2019;). For this reason, it is very important to examine herbal preparations and to investigate their medical effects.

Various species belonging to the Ranunculaceae family are used as spices and herbal medicine (Malik et al., 2017). These species are known to be used in conditions such as cancer, cardiac dysfunctions, various inflammation and severe hemostasis (Darshan and Doreswamy, 2004; Salem, 2005; Dewick, 2009). In addition, some species of this genus are known to have biological activities such as antibacterial, antiviral and antiprotozoal (Kaya et al., 2010). *Ficaria verna* Huds., which belongs to the Ranunculaceae family, is used in folk medicine for anti-inflammatory and anti-haemorrhagic effects. Especially, tuberous and dry root parts of the plant are used in treatment (Neag et al., 2017).

In this study, it was aimed to determine the antimicrobial effect of different concentrations of the flower and leaf parts of *F. verna* extracts obtained from methanol, ethanol and chloroform and the antioxidant activity of different concentrations of the extract obtained from methanol.

2. Materials and Methods

2.1. Obtaining and preparation of plant material

F. verna (syn. *Ranunculus ficaria* L.) was purchased commercially from a local herbalist in 2020. The taxonomic identification of plant material was determined by using the Flora of Turkey (Davis, 1965; The Plant List, 2021); it was performed by Prof Dr. Şemsettin Civelek who is a systematic-botanic specialist from Fırat University. The plant material was pulverized. 0.5 grams of sample was taken. Each sample was kept in an orbital shaker at 100 rpm for 72 hours to obtain an extract using 100 ml 96% methanol, ethanol and chloroform solvents. It was then filtered using Whatman filter paper.

2.2. Determination of antimicrobial effect

2.2.1. Test microorganisms

In this study; *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25322, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Bacillus megaterium* DSM32, *Salmonella thypii* ve *Candida albicans* FMC17 microorganisms were used. Microorganism cultures were obtained from Fırat University, Faculty of Science, Department of Biology, Microbiology Laboratory culture collection.

2.2.2. Preparation of microorganism cultures and testing for antimicrobial effect

The antimicrobial activity of extracts of *F. verna* obtained from ethanol, chloroform and methanol solvents were determined according to the disk diffusion method (Erecevit Sönmez et al., 2019). Bacteria strains (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25322, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Bacillus megaterium* DSM32, *Salmonella thypii*) were inoculated into Nutrient Broth (Difco) for 24 hours at $35 \pm 1^\circ\text{C}$ and yeast strains (*Candida albicans* FMC17) were incubated in Malt Extract Broth (Difco) for 48 hours at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. The culture of the prepared bacteria and yeast broth, respectively; was inoculated into Müeller Hinton Agar and Sabouraud Dextrose Agar at a rate of 1% (10^6 bacteria ml^{-1} , 10^4 yeast ml^{-1}). Then, after shaking well, 25 ml was placed in sterile petri dishes of 9 cm diameter. A homogeneous distribution of the medium was achieved. 6 mm diameter antimicrobial discs (Oxoid), each impregnated with different extracts of 100 μl (500 μg) and 200 μl (1000 μg), were lightly placed on the solidified agar medium. After the petri dishes prepared in this way were kept at 4°C for 1.5-2 hours, the plates inoculated with bacteria were incubated at $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$ for 24 hours, and the plates inoculated with yeast at $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ for 72 hours. As controls, different standard discs were used for bacteria (Streptomycin sulphate 10 μg disc $^{-1}$) and yeasts (Nystatin 30 μg disc $^{-1}$). Dimethyl sulfoxide (DMSO) was used for negative control. Zones of inhibition were measured in mm.

2.3. Determination of antioxidant effect

Antioxidant activity was determined by the free radical scavenging activity of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sharma and Bhat, 2009; Dimitrova et al., 2010). DPPH solution was prepared to be 0.004% in methanol. Serial concentrations (1.25, 2.5, 5, 10 mg ml⁻¹) of plant extracts were prepared by dissolving in methanol. 30 µl of plant extract was added on 3 ml of DPPH solution. It was left in the dark for 30 minutes at room temperature. Then, reading was done at 517 nm in the spectrophotometer. The antioxidant activity was repeated three times. Butylated hydroxyanisole (BHA) and methanol were used as controls. The antioxidant activity was calculated by the formula below. AbsControl = Absorbance of DPPH-methanol solution, AbsSample = Absorbance of plant extract.

$$\% \text{ DPPH inhibition} = [(AbsControl - AbsSample) / AbsControl] \times 100 \quad (1)$$

2.4. Statistical analysis

The statistical analysis of the study was made according to the kruskal wallis test.

3. Results

3.1. Antimicrobial effect

Antimicrobial activity results of *F. verna* extracts obtained from methanol, ethanol and chloroform against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus megaterium*, *Salmonella thypii* and *Candida albicans* at different concentrations are given in Table 1.

It was determined that the chloroform extract of *F. verna* at 500µg and 1000µg concentrations did not show antimicrobial effect against all the microorganisms used. (Table 1).

While ethanol extract of *F. verna* at 1000µg concentration was formed the zone 16 mm against *E. coli*, 11mm against *K. pneumoniae*, 14 mm against *S. aureus*, 10 mm against *S. thypii* and 14 mm against *C. albicans*, it was determined that it did not show an antimicrobial effect at a concentration of 500 µg (Table 1).

It was observed that the methanol extract of *F. verna* at 1000µg concentration formed an inhibition zone (17-21 mm) in different ratios against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. thypii* and *C. albicans* however it was determined that it did not show an antimicrobial effect in methanol extract at 500µg concentration (Table 1).

Table 1. Antimicrobial activity of different concentrations of *F. verna* (mm)

	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. thypii</i>	<i>C. albicans</i>
R.F-C (500µg)	-	-	-	-	-
R.F-C (1000µg)	-	-	-	-	-
R.F-E (500µg)	-	-	-	-	-
R.F-E (1000µg)	16	11	14	10	14
R.F-M (500µg)	-	-	-	-	-
R.F-M (1000µg)	20	17	21	18	18
Control	12	10	10	30	12

R.F-C: Chloroform extract of *F. verna*; R.F-E: Ethanol extract of *F. verna*; R.F-M: Methanol extract of *F. verna*.

3.2. Antioxidant effect

The percentage of inhibition of DPPH radical in different concentrations of the methanol extract of *F. verna* is shown in Table 2.

According to the results, it was determined that the DPPH radical scavenging effect of the methanol extract of *F. verna* increased depend on increasing concentrations (Table 2).

Table 2. Percent inhibition of the DPPH radical of *F. verna*

BHA	91.70
MetOH	1.56
1.25 mg ml ⁻¹	20.90
2.5 mg ml ⁻¹	42.38
5 mg ml ⁻¹	81.79
10 mg ml ⁻¹	95.98

BHT: Butylated hydroxyanisole; MetOH: Methanol.

Values are means \pm S.D.n:3, $p < 0.05$ importantly dissimilar with Kruskal Wallis's test.

4. Discussion and Conclusion

In previous studies, the antimicrobial and antioxidant effects of different species of plant extracts belonging to the Ranunculaceae family were determined. Antimicrobial activities of hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous extract of *R. sprunerianus* and *R. marginatus* var. *trachycarpus* against some microorganisms were tested. In the results obtained, it was determined that the antimicrobial effects of these species against *S. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes* and *E. coli* ranged between 128 and 256 $\mu\text{g mL}^{-1}$. (Kaya et al., 2010). It was reported in studies that the inhibition zones of *Ranunculus arvensis* obtained by using different solvents against *E. coli*, *E. aerogenes*, *B. bronchiseptica*, *K. pneumoniae*, *M. luteus* and *S. anginosus* are 7 mm. It was determined that the same species did not have a significant antifungal effect against *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigates*, *F. solani* and *Mucor* species (Bhatti et al., 2015). When the results of this study were compared with species such as *R. sprunerianus*, *R. marginatus* var. *trachycarpus* and *Ranunculus arvensis* in the literature, it was determined that the antimicrobial effect of *F. verna* is different depending on the solvents and the microorganisms used. It was observed that the methanol extract of *F. verna* has a better antimicrobial effect than chloroform and ethanol extracts.

Antioxidant activities of *A. hupehensis*, *A. spicata*, *C. europaea*, *H. foetidus*, *A. vulparia*, *T. altissimus* and *C. racemosa* were determined as 0.325, 0.251, 0.195, 0.172, 0.109, 0.103 and 0.156 TE g^{-1} , respectively. Studies were reported that *R. ficaria* has 80.9% scavenging effect of DPPH radical at a concentration of 1 mg ml⁻¹ (Barla et al., 2014). In studies, the scavenging effect of the DPPH radical of different concentrations (50-500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) of the roots of *Ranunculus sceleratus* was found to be between 57.50% \pm 2.88 and 21.89% \pm 0.75 (Serag et al., 2020). The scavenging effect of the DPPH radical of hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous extracts of *R. marginatus* var. *trachycarpus* were found to be 10.50% \pm 0.30, 22.34% \pm 0.33, 76.58% \pm 0.98 and 45.50% \pm 0.50, respectively. DPPH radical scavenging effect of *R. sprunerianus* hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous extracts was found to be 27.60% \pm 0.06, 37.20% \pm 0.09, 85.34% \pm 0.33 and 61.09% \pm 0.29, respectively (Kaya et al., 2010). The IC₅₀ value of the DPPH radical scavenging effect of *R. ficaria* extract obtained from glycerol-ethanol and hydroalcoholic solvents was calculated as 1.9 and 243.4 μl , respectively (Neag et al., 2017). When the results of this study are compared with *A. hupehensis*, *A. spicata*, *C. europaea*, *H. foetidus*, *A. vulparia*, *T. altissimus*, *C. racemosa*, *R. sceleratus*, *R. marginatus* var. *trachycarpus* and *R. sprunerianus*, It was determined that the antioxidant effect of *F. verna* is higher.

In this study, the antimicrobial and antioxidant effects of *F. verna* were investigated. In the results obtained, it was found that antimicrobial and antioxidant effects increased depending on the increase in concentration. As a result, we think that *F. verna* can be used as an antioxidant and antimicrobial agent in pharmacological studies.

References

- Altay, V., Karahan, F., Sarcan, Y. B., & İlçim, A. (2015). An ethnobotanical research on wild plants sold in Kırıkhan district Hatay/Turkey herbalists and local markets. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 8(2), 81-91.
- Bârlă, G. F., Poroch - Serîţan, M., Sânduleac (Tudosî), E., & Ciornei (Ştefăroi), S. E. (2014). Antioxidant activity and total phenolic content in *Allium ursinum* and *Ranunculus ficaria*, *Journal Of Faculty Of Food Engineering*, XIII(4), 349 – 353.

- Bhatti, M. Z., Ali, A., Saeed, A., Saeed, A., & Malik, S. A. (2015). Antimicrobial, antitumor and brine shrimp lethality assay of *Ranunculus arvensis* L. Extracts. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*, 28(3), 945-949.
- Darshan, S., Doreswamy, R., (2004). Patented antiinflammatory plant drug development from traditional medicine. *Phytotherapy Research*, 18, 343–357.
- Davis, P.H. (1965). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Vol. 1., Edinburgh.
- Dewick, P.M., (2009). *Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach*. Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Dimitrova, D. Z., Nedialkov P., & Kitanov, G. (2010). Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria. *Pharmacognosy Magazine*. 6, 74-78. Doğan, Ö., Avcı, A. (2018). Bitkilerle tedavi ve ilaç etkileşimleri. *Türkiye Klinik Journal Public Health*, 4(1), 49-54.
- Đurđević, L., Gajić, G., Jarić, S., Kostić, O., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2013). Analysis of benzoic and cinnamic acid derivatives of some medicinal plants in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 65(2), 603-609.
- Erecevit Sönmez, P., Kırbağ, S., & İnci, Ş. (2019). antifungal and antibacterial effect of Dodder (*Cuscuta campestris*) used for hepatitis treatment of mothers and newborn infants in province Mardin in Turkey. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(4), 722-730.
- Karahan, F., Avsar, C., Ozyigit, I. I., & Berber, I. (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of medicinal plant *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* from different habitats. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(4), 797-804.
- Karahan, F., İlçim, A. (2017). Radioterapi gören kanser hastalarında tıbbi ve aromatik bitkilerin potansiyel faydaları. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 10(2), 51-61.
- Karahan, F., Ozyigit, I. I., Saracoglu, I. A., Yalcin, I. E., Hocoğlu Özyiğit, A., & Ilcim, A. (2020). Heavy metal levels and mineral nutrient status in different parts of various medicinal plants collected from Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Biological Trace Element Research*, 197, 316–329.
- Kaya, G. İ., Somer, N. Ü., Konyalıoğlu, S., Yalçın, H. T., Karabay Yavaşoğlu, N. Ü., Sarıkaya, B., & Önür, M. A. (2010). Antioxidant and antibacterial activities of *Ranunculus marginatus* var. *trachycarpus* and *R. sprunerianus*. *Turkish Journal of Biology*, 34, 139-146.
- Malik, J., Tauchen, J., Landa, P., Kutil, Z., Marsik, P., Kloucek, P., Havlik, J., & Kokosk, L. (2017). In vitro antiinflammatory and antioxidant potential of root extracts from Ranunculaceae species. *South African Journal of Botany*, 109, 128–137.
- Neag, T., Toma, C. C., Olah, N., & Ardelean, A. (2017). Polyphenols profile and antioxidant activity of some Romanian *Ranunculus* species. *Studia Ubb Chemia*, LXII(3), 75-88.
- Ozaslan, M., & Oguzkan, S. B. (2018). Use of plant extracts in alternative medicine. *Pakistan Journal of Biological Science*, 21(1), 1-7.
- Serag, M. S., Khedr, A. E. H. A., El-Amier, Y. A., & El-Afify, S. M. (2020). Bioactive constituents and allelopathic activities of the invasive weed *Ranunculus sceleratus* L. Nile Delta, Egypt. *Journal of Experimental Sciences*, 11, 1-4.
- Sharma O. P., & Bhat T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113, 1202–1205.
- The Plant List (2021). Publish on the internet; <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2523483> (accessed April 2021).



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Bazı Biber (*Capsicum annuum* L.) Genotiplerinin Anter Kültürü Performanslarının Belirlenmesi

Didem ATASOY¹, Gökhan BAKTEMUR², Hatıra TAŞKIN^{3*}

^{1,2,3}Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 01330, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-0659-2943> ²<https://orcid.org/0000-0002-0362-5108> ³<https://orcid.org/0000-0002-1784-4731>

*Sorumlu yazar e-posta: hatirataskin1@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 04.12.2020
Kabul: 23.05.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.835106

Anahtar kelimeler

Anter kültürü,
Biber,
Capsicum annuum,
Genotip.

Öz: Bu çalışmada, farklı tiplerde 23 biber genotipinde anter kültürü performansı belirlenmiştir. Çiçek tomurcuklarının dezenfeksiyonunda, tomurcuklar öncelikle % 70'lik etil alkolde 30 saniye bekletilmiş ve sonrasında 10 dakika % 15'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde tutulmuşlardır. Anterler ilk aşamada; 30 g/L sakkaroz, 2.5 g/L aktif kömür, 15 mg/L gümüş nitrat (AgNO₃), 4 mg/L 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), 0.5 mg/L 6-Benzylaminopurine (BAP) ve 6.5 g/L agar içeren Murashige and Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmışlardır. Sonrasında anterler, 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren ve büyümeyi düzenleyici içermeyen MS besin ortamına aktarılmışlardır. Elde edilen embriyolarda, aynı besin ortamına alınmışlardır (ikinci ortama). Anterler, ön uygulama olarak, +35°C'de ve karanlık koşullarda 2 gün süresince bekletilmişlerdir. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, genotiplere göre 100 anter için ortalama embriyo sayıları 0.83 ile 44.44 arasında değişmiştir. En yüksek oran, FT-509 genotipinde gözlemlenmiş ve bu genotipi FT-508 (23.61 embriyo/100 anter), FT-1181 (23.37 embriyo/100 anter) ve FT-905 (22.89 embriyo/100 anter) genotipleri takip etmiştir. En düşük performansı, 0.83 adet embriyo/100 anter ile FT-1178 genotipi göstermiştir. Oluşan embriyoların tamamı, bitkiye dönüşebilmiştir. Bu nedenle, 100 anter için ortalama bitki oluşturan embriyo sayısı değerleri, 100 anter için ortalama embriyo sayıları ile aynı olmuştur. En yüksek ortalama bitki sayısı 20 adet ile FT-508 no'lu genotipte gözlemlenmiş ve FT-509 (17.5 bitki), FT-1181 (16 bitki), FT-905 (12 bitki), FT-263 (10.5 bitki) ile FT-507 (8.25 bitki) genotipleri tarafından takip edilmiştir. En düşük bitki sayısı ise 0.5 adet ile FT-1178 no'lu genotipte kaydedilmiştir.

Determination of Anther Culture Performance of Some Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes

Article Info

Received: 04.12.2020
Accepted: 23.05.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.835106

Keywords

Anther culture,
Pepper,

Abstract: In this study, anther culture performances of 23 pepper genotypes belonging different types were determined. In disinfection of flower buds, the buds were first kept in 70% ethyl alcohol for 30 seconds and then were waited in 15% sodium hypochlorite solution for 10 minutes. The anthers were cultured in Murashige and Skoog (MS) nutrient medium containing 30 g L⁻¹ sucrose, 2.5 g L⁻¹ activated charcoal, 15 mg L⁻¹ silver nitrate (AgNO₃), 4 mg L⁻¹ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), 0.5 mg L⁻¹ 6-Benzylaminopurine (BAP) and 6.5 g L⁻¹ agar in the first stage. The anthers were then transferred to MS medium including 30 g L⁻¹ sucrose and 6.5 g L⁻¹ agar and without growth regulators. The embryos obtained were taken to the same nutrient medium (second one). The

Capsicum annuum,
Genotype.

anthers were cultured at +35°C and in dark conditions for 2 days as pre-treatment. When the results of the study were evaluated, average embryo number per hundred anthers according to the genotypes ranged from 0.83 to 44.44. The highest ratio was observed in the genotype FT-509 and it was followed by the genotypes FT-508 (23.61 embryos/100 anthers), FT-1181 (23.37 embryos/100 anthers) and FT-905 (22.89 embryos/100 anthers). The genotype FT-1178 showed the lowest performance with 0.83 embryos/100 anthers. All of the embryos developed could transform into plants. Therefore, the average embryo number forming plant per 100 anthers was the same with average embryo number per hundred anthers. The highest average plant number was observed in the genotype FT-508 with 20 plants and it was followed by the genotypes FT-509 (17.5 plants), FT-1181 (16 plants), FT-905 (12 plants), FT-263 (10.5 plants) and FT-507 (8.25 plants). The lowest number of plant was recorded in the genotype FT-1178 with 0.5 plant.

1. Giriş

Anavatanı Amerika kıtası olan biber (Öntürk ve Çürük, 2019; Eroğlu ve ark., 2020), Solanaceae familyası ve *Capsicum* cinsi içerisinde yer alır. Birçok türü barındıran *Capsicum* cinsinde, en çok tüketimi yapılan tür *Capsicum annuum* L.'dur. Türkiye'nin 2018 yılında kopya biber üretimi 1 128 060 ton, dolmalık üretimi 397 175 ton, sivri üretimi 930 349 ton, çarliston üretimi ise 99 390 ton (toplam 2 554 974 ton) iken, 1988 verileri incelendiğinde kopya ve çarliston için kayıtlı üretim bulunamazken, dolmalık üretim 470 000 ton, sivri üretim ise 260 000 ton olmuştur (TÜİK, 2018). Örtüaltı dolmalık biber üretimi 1996'da 21 870 ton iken, 2018'de 100 253 ton, 1996 yılına kopya tipinde biber üretimi gerçekleştirilmezken 2018'de 136 242 ton, sivri üretimi 1996'da 261 205 ton iken, 2018'de 282 029 ton, çarliston üretimi 1996'da gerçekleştirilmezken, 2018'de 70 645 ton olarak kaydedilmiştir (TÜİK, 2018). Dünya taze ve kuru toplam biber üretiminde 2018 yılı FAO verilerine göre; ilk sırayı 18 506 001 ton ile Çin alırken, Çin'i sırası ile 3 440 044 ton ile Meksika, 2 569 269 ton ile Türkiye, 2 542 358 ton ile Endonezya, 1 887 679 ton ile Hindistan, 1 281 896 ton ile İspanya, 818 238 ton ile Nijerya, 776 321 ton ile Mısır ve 706 225 ton ile Amerika Birleşik Devletleri izlemektedir. Sadece taze biber üretiminde 18 184 711 ton ile yine Çin ilk sırada, 3 379 289 ton ile Meksika ikinci, 2 554 974 ton ile Türkiye üçüncü, 2 542 358 ton ile Endonezya dördüncü, 1 275 457 ton ile İspanya beşinci, 747 367 ton ile Nijerya altıncı, 713 752 ton ile Mısır yedinci ve 705 790 ile Amerika Birleşik Devletleri sekizinci sırada yer almaktadır. Sadece kuru biber üretiminde ise ilk sırada 1 808 011 ton ile Hindistan yer almaktadır. Hindistan'ı 321 290 ton ile Çin, 294 299 ton ile Etiyopya, 247 010 ton ile Tayland, 148 114 ton ile Pakistan, 141 177 ton ile Bangladeş ve 130 335 ton ile Myanmar izlemektedir (FAO, 2018). Türkiye toplam taze ve kuru ve aynı zamanda sadece taze biber üretiminde dünya üçüncülüğünü korumakla beraber, Endonezya'nın çok az bir farkla Türkiye'yi takip etmesi de dikkate değer bir durumdur. Kuru biber üretiminde ise Hindistan'ın çok açık şekilde görülebilecek üstünlüğü bulunmaktadır.

Sebze ıslahında doku kültürü yöntemlerinden, haploid bitki üretimini hedefleyen erkek gametten haploid uyartımı (androgenesis) ve dişi gametten haploid uyartımı (ginogenesis) ve partenogenesis önemli kolaylıklar ve zamandan kazanım sağlamaktadırlar. Erkek gametten haploid uyartımı anter kültürü ve mikrospor kültürü; dişi gametten haploid uyartımı ise ovül ve ovaryum kültüründen oluşmaktadır. Kromozom eliminasyonu ve eksik veya yetersiz polenle tozlama yöntemleri de haploid bitki üretimi amaçlı kullanılmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, biberde bu yöntemlerden anter kültürünün başarılı bir şekilde uygulanabildiği görülmüş ve uygun bir protokolün oluşturulması amacı ile çalışmalar devam ettirilmektedir. Biber anter kültürü için, çok sayıda besin ortamı bileşimi çalışılmış ve başarılı protokoller geliştirilmiştir (Buyukalaca ve ark., 2004; Taşkin ve ark., 2011; Ata ve ark., 2019, Shimira ve ark., 2019a). Haploid embriyo oluşumunda başarıyı en fazla etkileyen faktörler; donör bitki, genotip, kültür ortamı içeriği, büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları olarak bilinmektedir.

Çömlekçioğlu ve Ellialtıoğlu (2018) tarafından yapılan bir derleme çalışmasında, ülkemizde biberde anter kültürü konusunda yapılan çalışmalar ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur. Türkiye'de, 1983 yılında ve takip eden 37 yıl boyunca biberlerden (*Capsicum* sp.) haploidlerin elde edilmesi çabalarının

başlangıcından bu yana, çalışmaların amacı, çoğunlukla donör genotiplerin, besin ortamı bileşimi ve katkı maddelerinin, büyüme düzenleyicilerin, inkübasyon koşullarının, donör bitki büyüme koşullarının ve anterlerin alındığı farklı zamanların etkilerine odaklanarak yeni etkili teknikler geliştirmek olmuştur (Çömlekçioğlu ve Ellialtıoğlu, 2018). Bu yöntemle oluşturulan haploid bitkilerden elde edilen saf hatlar, yeni çeşitlerin geliştirilmesinde başarıyla kullanılmaktadır (Çömlekçioğlu & Ellialtıoğlu, 2018). Sunulan bu çalışmanın amacı, 23 farklı biber genotipinde anter kültürü performansının belirlenmesidir. Çalışmada kullanılan genotipler, özel bir firma tarafından ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu genotiplerin androgenesis etkinliklerinin belirlenmesi ve bu genotiplerden dihaploid bitkilerin elde edilmesi ile özel firma tarafından yürütülen ıslah çalışmaları hızlandırılmış olacaktır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma 2018-2019 yılları arasında, ARGEERA Bilimsel Araştırma Geliştirme Üretim Danışmanlık San. ve Tic. Ltd. Şti. (Antalya)'nde yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak, ıslah çalışmalarında kullanılan ve özel firma tarafından kodlanan (Semillas Fitó, İspanya) 23 adet biber genotipi kullanılmıştır. Genotiplerin kodları ve tipleri Çizelge 1'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan biber genotipleri

Genotip No	Tip
FT-263	Sivri
FT-500	Çarliston
FT-501	Çarliston
FT-507	Çarliston
FT-508	Çarliston
FT-509	Çarliston
FT-900	Kapya
FT-901	Kapya
FT-902	Kapya
FT-903	Kapya
FT-905	Kapya
FT-906	Kapya
FT-907	Kapya
FT-908	Kapya
FT-1173	Dolma
FT-1174	Dolma
FT-1175	Dolma
FT-1178	Dolma
FT-1179	Dolma
FT-1180	Dolma
FT-1181	Dolma
FT-1182	Dolma
FT-1183	Dolma

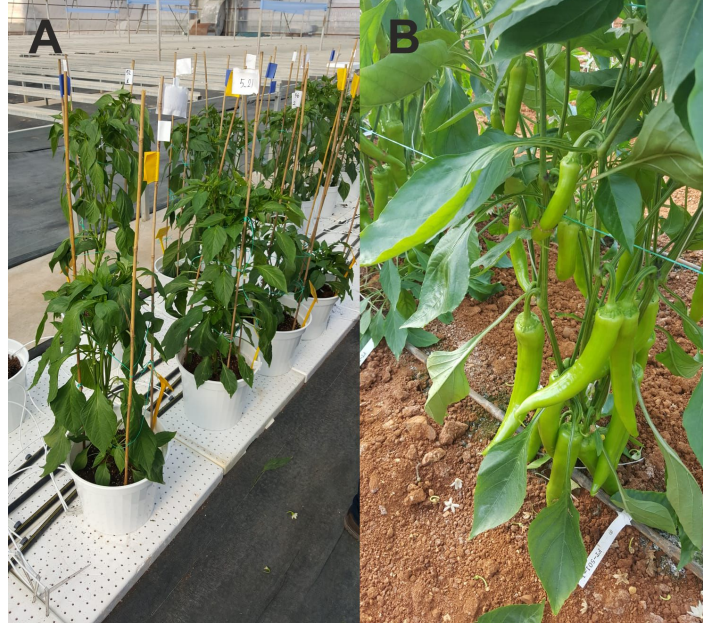
Genotiplere ait tohumların ekimi, 2018 yılı Ağustos ayında, içerisinde 2 hacim torf ve 1 hacim perlit bulunan viyollere yapılmıştır. Eylül ayı içerisinde, 6-7 gerçek yapraklı dönemde iken fideler, her genotipten 30 bitki olacak şekilde, 110 x 50 x 50 cm aralıklarla plastik seraya dikilmişlerdir. Bitki gelişimi boyunca gerekli bakım işlemleri (sulama, gübreleme, budama, hastalık ve zararlılarla mücadele, yabancı otların temizlenmesi vb.) dikkatli bir şekilde uygulanmıştır.

Denemelere başlarken anter kültürü için uygun aşama, asetokarmen ile boyama yöntemiyle teyit edilmiştir (Keleş ve ark., 2015). Sera koşullarında yetiştirilen ve çiçeklenmeye başlayan bitkilerden, uygun anter safhasına sahip tomurcuklar, sabahın erken saatlerinde toplanarak, doku kültürü laboratuvarına getirilmiş ve yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuşlardır. Bu amaçla tomurcuklar, steril kabin içerisinde % 70'lik etil alkolde 30 saniye bekletilmiş ve steril saf su ile birkaç defa durulanmıştır. Sonrasında 10 dakika süresince 1-2 damla Tween-20 içeren % 15'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinde tutulmuş ve tekrardan birkaç defa steril saf su ile durulanmışlardır.

Tomurcuklardan anterlerin alınması için, steril kabinde steril edilmiş filtre kağıtları üzerinde, steril edilmiş pens ve bistüriler ile tomurcuklar açılarak, anterlere zarar verilmeden filamentlerinden ayrılarak petri kaplarındaki besin ortamlarına yerleştirilmişlerdir. Her bir tomurcuktan çıkarılan 5-6 adet anter, tek bir petri kabına yerleştirilmiştir. Enfeksiyonun önlenmesi için petri kaplarının etrafı streç film ile sarılmış ve sıcaklık ön uygulaması için inkübatöre yerleştirilmiştir (Taşkin ve ark., 2011).

Temel besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog, 1962) kullanılmıştır. Anterler ilk aşamada; 30 g/L sakkaroz + 2.5 g/L aktif kömür + 15 mg/L AgNO₃ + 4 mg/L NAA + 0.5 mg/L BAP + 6.5 g/L agar içeren MS besin ortamında kültüre alınmışlardır (Shimira ve ark., 2019a). Sonrasında anterler, 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren ve büyümeyi düzenleyici içermeyen MS besin ortamına aktarılmışlardır (Shimira ve ark., 2019a). Elde edilen embriyolar da aynı besin ortamına alınmışlardır (ikinci besin ortamı) (Shimira ve ark., 2019a). Petri kaplarına yerleştirilen anterler ön-uygulama amacıyla, inkübatörde +35°C'de ve karanlık koşullarda 2 gün süresince ön uygulamaya tabi tutulmuşlardır (Taşkin ve ark., 2011). Ön uygulamayı takiben petriler, 25±1°C sıcaklık, 3600 lux gücündeki floresan ile aydınlatılan, 16 saat aydınlık-8 saat karanlık ışık rejimine sahip kültür odasında bekletilmişlerdir (Taşkin ve ark., 2011).

Köklenen bitkilerin dış ortama adaptasyonlarını sağlamak amacıyla, tüplere sarılı streç film çıkarılarak 1 gün, kültür tüplerinin kapakları gevşetilerek 1 gün ve kapaklar tamamen açılarak 1 gün bekletilmişlerdir. Sonrasında bitkiler tüplerden uzun pens yardımıyla köklere zarar vermeden dikkatlice çıkarılmış ve kökleri besin ortamı kalıntılarında tamamen temizlenene kadar musluk suyu altında yıkanmıştır. Bitkilerin kökleri fungusitli suya daldırılmış, bitkiler steril 2 hacim torf - 1 hacim perlit karışımı bulunan viyollere-saksılara dikilmiş ve ilk sulama fungusitli su ile yapılmıştır. Bitkiler birkaç hafta süresince % 90-100 nem içeren alçak plastik tüneller içine yerleştirilmiş, bitkilerin bulunduğu ortam, yapraklara ve tünel içine sürekli su püskürtülmesi yoluyla nemli tutulmuştur. Tünellerin örtüleri kademeli olarak açılarak, dış ortama yavaş şekilde alışmaları sağlanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Anter kültürü sonucu geliştirilerek dış koşullara alıştırılan biber bitkileri; dış koşullara alıştırma (A), dış koşullara adapte olup ürün aşamasındaki biber bitkileri (B).

Denemelerde; kültüre alınan anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, kallus oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı, bitkiye dönüşen embriyo sayısı ve gelişen bitki sayıları kaydedilmiştir.

Embriyo oluşturan anter oranı; embriyo oluşturan anter sayısının, anter sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

Kallus oluşturan anter oranı; kallus oluşturan anter sayısının, anter sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

Embriyo oranı; embriyo sayısının, anter sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

Bitkiye dönüşen embriyo oranı; bitkiye dönüşen embriyo sayısının tüm oluşan embriyolara oranı ile hesaplanmıştır.

Deneme, tesadüf parselleri düzenine göre 4 tekerrürlü, her tekerrürde 5 petri olacak şekilde yapılmıştır. Hesapla bulunan yüzde değerlere açı transformasyonu uygulandıktan sonra, varyans analizi yapılmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, SAS temeli üzerine kurulu JMP 8.1 istatistik paket programı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, % 5 önem düzeyinde LSD testi ile karşılaştırılmıştır.

3. Bulgular

Çizelge 2’de, her bir genotip için anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı ve kallus oluşturan anter sayısı 4 tekerrür için tekerrür ortalaması şeklinde verilmiştir. Embriyo oluşturan anter sayısı ortalamaları, 5 ile 42.5 arasında değişmiştir. Genotiplerde anter sayısı farklı olduğu için (Çizelge 2), genotipleri tekerrürlerin embriyo oluşturan anter sayılarının ortalamaları şeklinde karşılaştırmak, doğru sonuca yönlendirecektir. Bu nedenle, hem embriyo oluşturan hem de kallus oluşturan anter sayısı için, 100 anter başına embriyo ve kallus oluşturan anter sayıları hesaplanarak Çizelge 2’de sunulmuştur. Bu açıdan, 100 anter başına embriyo oluşturan anter sayısı ortalamaları, 9.16 ile 74.52 arasında değişmiş, en yüksek değer 74.52 embriyo oluşturan anter/100 anter ile FT-1173 no’lu genotipten elde edilmiştir. Bu genotipi, FT-500 (72.91 embriyo oluşturan anter/100 anter), FT-501 (71.87 embriyo oluşturan anter/100 anter), FT-509 (63.88 embriyo oluşturan anter/100 anter), FT-908 (48.96 embriyo oluşturan anter/100 anter) ve FT-508 (48.21 embriyo oluşturan anter/100 anter) no’lu genotipleri izlemiş, en düşük değer ise FT-1178 (9.16 embriyo oluşturan anter/100 anter) no’lu genotipten elde edilmiştir. Yüz anter başına ortalama kallus oluşturan anter sayısı açısından ise, sonuçlar 2.37 ile 45.83 arasında değişmiş, FT-902 (45.83 kallus oluşturan anter/100 anter) ve FT-903 (39.25 kallus oluşturan anter/100 anter) genotiplerinden en yüksek değerler elde edilmiştir. Bu genotipleri; FT-1175 (21.43 kallus oluşturan anter/100 anter), FT-1178 (20.83 kallus oluşturan anter/100 anter), FT-1181 (15.41 kallus oluşturan anter/100 anter), FT-1173 (14.85 kallus oluşturan anter/100 anter) ve FT-1180 (14.09 kallus oluşturan anter/100 anter) takip etmiş, en düşük performans ise FT-501 (2.37 kallus oluşturan anter/100 anter) no’lu genotipte gözlemlenmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan biber genotiplerinin kültüre alınan anter, embriyo ve kallus oluşturan anter sayıları

Genotip	AS (adet)	EOAS (adet)	EOAS/100 A (%)	KOAS (adet)	KOAS/100 A (%)
FT-263	92.5	20	22.62 fgh (28.40)	4	4.52 bcd (12.28)
FT-500	25	18.75	72.91a (58.64)	1.25	5.42 bcd (13.46)
FT-501	31.25	20	71.87 a (57.97)	1.5	2.37 d (8.86)
FT-507	47.5	15	30.06 d-g (33.24)	1.25	3.96 bcd (11.48)
FT-508	85	42.5	48.21bc (43.97)	4.75	6.96 bcd (15.30)
FT-509	45	28.75	63.88 ab (53.06)	1.25	6.38 bcd (14.63)
FT-900	32.5	11.25	34.61 c-g (36.04)	2.5	8.37 bcd (16.82)
FT-901	32.5	11.25	40.0 cde (39.23)	2.5	13.17 bcd (21.28)
FT-902	22.5	7.5	43.75 cd (41.41)	5	45.83 a (42.61)
FT-903	22.5	7.75	42.75 cde (40.83)	5	39.25 a (38.79)
FT-905	52.5	22.5	40.21cde (39.35)	3.75	9.25 bcd (17.71)
FT-906	90	19.75	20.68 gh (27.05)	3.25	4.94 bcd (12.84)
FT-907	22.5	8.75	39.37 cde (38.86)	1.25	6.62 bcd (14.91)
FT-908	45	22.5	48.96 bc (44.40)	2.5	6.04 bcd (14.23)
FT-1173	25	18.75	74.52 a (59.68)	3	14.85 bcd (22.67)
FT-1174	40	11.75	27.50 d-g (31.63)	2.5	11.87 bcd (20.15)
FT-1175	22.5	5	19.64 gh (26.31)	2.5	21.43 b (27.58)
FT-1178	45	5	9.16 h (17.62)	7.5	20.83 bc (27.16)
FT-1179	32.5	10	30.62 d-g (33.60)	3.75	13.12 bcd (21.24)
FT-1180	37.5	8.75	21.59 fgh (27.69)	6.25	14.09 bcd (22.05)
FT-1181	65	25	37.29 c-f (37.64)	9.25	15.41 bcd (23.11)
FT-1182	37.5	10	26.78 efg (31.16)	2.75	7.41bcd (15.80)
FT-1183	62.5	27.5	47.5 bc (43.57)	6.75	11.90 bcd (20.18)

$LSD_{EOAS/100 A}^{***} = 16.57$ $LSD_{KOAS/100 A}^{***} = 17.43$

(1): Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur.

(2): Ö.D.: Önemli değil; *. $P < 0.05$. ** $p \leq 0.01$. *** $p \leq 0.001$ 'i ifade etmektedir.

Parantez içindeki değerler, açılı transformasyonu yapılmış değerlerdir.

AS: Anter Sayısı, EOAS: Embriyo Oluşturan Anter Sayısı, EOAS/100 A: Embriyo Oluşturan Anter Sayısı/100 Anter, KOAS: Kallus Oluşturan Anter Sayısı, KOAS/100 A: Kallus Oluşturan Anter Sayısı/100 Anter.

Anter kültürü denemelerinde genotiplerin performanslarının karşılaştırılmasında, genellikle 100 anter başına hesaplanan embriyo sayısı göz önünde bulundurulmaktadır. Bu çalışmada da, bu hesaplamalar yapılarak Çizelge 3’de sunulmuştur. Yüz anter için ortalama embriyo sayıları, 0.83 ile 44.44 arasında değişmiştir (Şekil 2). En yüksek oran, 44.44 embriyo/100 anter ile FT-509 genotipinde gözlemlenmiş, bu genotip; FT-508 (23.61 embriyo/100 anter), FT-1181 (23.37 embriyo/100 anter), FT-905 (22.89 embriyo/100 anter), FT-501 (21.67 embriyo/100 anter) ve FT-1179 (20.37 embriyo/100 anter) genotipleri tarafından takip edilmiştir. En düşük performansı, 0.83 adet embriyo/100 anter ile FT-1178 genotipi göstermiştir. Ortalama bitkiye dönüşen embriyo sayısı, 0.5 ile 20 arasında değişmiştir. Oluşan embriyoların tamamı bitkiye dönüşebilmiştir. Bu nedenle, 100 anter için ortalama bitki oluşturan embriyo sayısı değerleri, 100 anter için ortalama embriyo sayıları ile aynı olmuştur. Her genotipte bitki oluşturan embriyo sayısı ortalamaları açısından ise, en yüksek bitki sayısı ortalama 20 adet ile FT-508 no’lu genotipte gözlemlenmiş ve FT-509 (17.5 bitki-), FT-1181 (16 bitki), FT-905 (12 bitki), FT-263 (10.5 bitki) ile FT-507 (8.25 bitki) genotipleri tarafından takip edilmiştir. En düşük bitki sayısı ise 0.5 adet ile FT-1178 no’lu genotipte gözlemlenmiştir. Gelişen bitki sayısı ise, 0.5 ile 15.75 arasında değişmiştir. En yüksek performans; FT-508 (15.75 bitki), FT-1181 (14.75 bitki), FT-509 (12.5 bitki), FT-263 (8.25 bitki) ve FT-908 (7.25 bitki) genotiplerinde kaydedilirken, en düşük performansı 0.5 ile FT-902 ve FT-1178 genotipleri göstermiştir.

Çizelge 3. Denemede farklı biber genotiplerden anter kültürü yoluyla elde edilen embriyo ve bitki sayıları

Genotip	ES (adet)	ES/100 A (%)	BDES (adet)	GBS (adet)
FT-263	10.5	11.47 efg (19.77)	10.5	8.25
FT-500	2.25	9.37 fg (17.68)	2.25	1.5
FT-501	6	21.67 bc (27.61)	6	5
FT-507	8.25	16.52 b-f (23.89)	8.25	6.75
FT-508	20	23.61 b (29.06)	20	15.75
FT-509	17.5	44.44 a (41.8)	17.5	12.5
FT-900	3.5	9.87 fg (18.08)	3.5	3
FT-901	3.75	12.16 efg (20.38)	3.75	2
FT-902	1.5	4.58 h (8.80)	1.5	0.5
FT-903	2.25	12.75 d-g (20.49)	2.25	1.75
FT-905	12	22.89 bc (28.56)	12	6.25
FT-906	6.75	7.12 g (15.29)	6.75	4.75
FT-907	2.5	11.66 efg (19.92)	2.5	2.5
FT-908	7.75	17.50 b-e (24.70)	7.75	7.25
FT-1173	4	16.19 b-f (23.52)	4	2.75
FT-1174	7.25	18.87 b-e (25.74)	7.25	5.25
FT-1175	1.25	3.57 h (7.71)	1.25	0.75
FT-1178	0.5	0.83 h (3.71)	0.5	0.5
FT-1179	6.5	20.37 bcd (26.80)	6.5	3.75
FT-1180	6.25	15.69 b-f (23.14)	6.25	4
FT-1181	16	23.37 bc (28.69)	16	14.75
FT-1182	5.5	14.82 c-f (22.43)	5.5	4.25
FT-1183	7.25	11.88 efg (20.15)	7.25	6

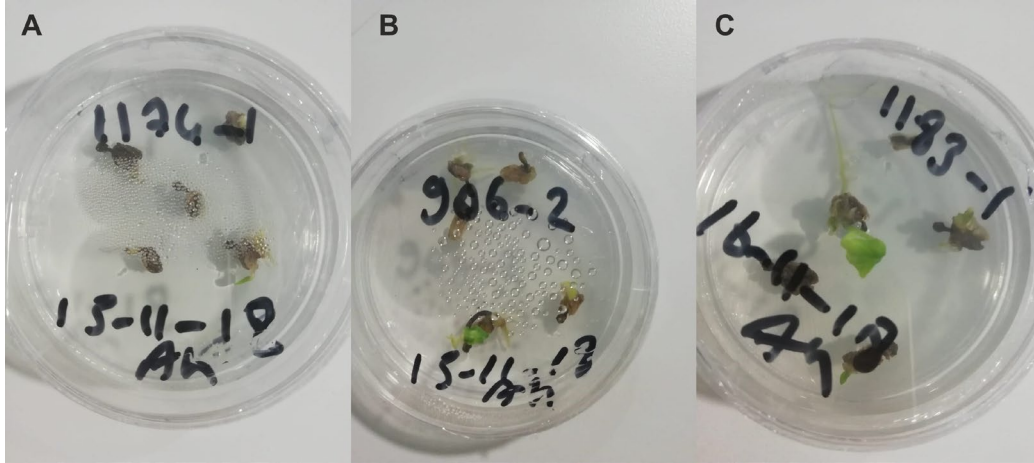
LSD_{ES/100 A} ***= 7.07

(1): Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur.

(2): Ö.D.: Önemli değil; * P<0.05. **p ≤ 0.01. ***p ≤ 0.001’i ifade etmektedir.

Parantez içindeki değerler, açılı transformasyonu yapılmış değerlerdir.

ES: Embriyo Sayısı, ES/100 A: Embriyo Sayısı/100 Anter, BDES: Bitkiye Dönüşen Embriyo Sayısı, GBS: Gelişen Bitki Sayısı.



Şekil 2. Denemede kullanılan bazı biber genotiplerinin anter kültürüne tepkisi; FT-1174 (A), FT-906 (B), FT-1183 (C).

Koleva-Gudeva ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; dokuz biber çeşidinin androgenesis tepkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar çeşitleri anter kültürüne cevapları açısından kendi aralarında gruplamışlar; bu bağlamda Feferona, Vezena Luta, Sivrija ve Rotund çeşitleri cevap vermeyenler; Slatko Luta, Zlaten Medal ve Kurtovska Kapija çeşitleri zayıf cevap verenler; California Wonder çeşidi orta-iyi cevap veren ve Féherözön çeşidi çok iyi-mükemmel cevap veren olarak gruplandırılmıştır. Sunulan bu tez çalışmasında da, 100 anter sayısı başına embriyo açısından genotipleri karşılaştırarak, genotipleri kendi içinde değerlendirdiğimizde, Çizelge 4'deki gibi bir gruplama yapılabilir.

Çizelge 4. Denemede kullanılan biber genotiplerinin anter kültürü performansları açısından gruplandırılması (embriyo sayısı/100 anter için)

Genotip No	Anter Kültürü Performansı	Biber Tipi
FT-500	Düşük (9.37)	Çarliston
FT-900	Düşük (9.87)	Kapya
FT-902	Düşük (4.58)	Kapya
FT-906	Düşük (7.12)	Kapya
FT-1175	Düşük (3.57)	Dolma
FT-1178	Düşük (0.83)	Dolma
FT-263	Orta (11.47)	Sivri
FT-501	Orta (21.67)	Çarliston
FT-507	Orta (16.52)	Çarliston
FT-508	Orta (23.61)	Çarliston
FT-901	Orta (12.16)	Kapya
FT-903	Orta (12.75)	Kapya
FT-905	Orta (22.89)	Kapya
FT-907	Orta (11.66)	Kapya
FT-908	Orta (17.50)	Kapya
FT-1173	Orta (16.19)	Dolma
FT-1174	Orta (18.87)	Dolma
FT-1179	Orta (20.37)	Dolma
FT-1180	Orta (15.69)	Dolma
FT-1181	Orta (23.37)	Dolma
FT-1182	Orta (14.82)	Dolma
FT-1183	Orta (11.88)	Dolma
FT-509	Yüksek (44.44)	Çarliston

Bu gruplama genotiplerin kendi aralarında değerlendirmeleri ile kendimiz tarafından yapılmıştır: 0-10 embriyo/100 anter: Düşük, 10-30 embriyo/100 anter: Orta, 30-50 embriyo/100 anter: Yüksek.

4. Tartışma ve Sonuç

Biberde anter kültürüne tepkide genotipin en önemli faktörlerden birisi olduğu, günümüze kadar yapılan birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Comlekcioglu ve ark. (2001) Kahramanmaraş ve Şanlıurfa'dan iki lokal biber popülasyonunun anter kültüründe $AgNO_3$ (10 mg/L) etkisini test etmişlerdir. Bu popülasyonların seçim nedeni, araştırmacıların daha önce yapmış oldukları çalışmalarda cevaplarının iyi olmaması olmuştur. Çalışmalarının sonunda, her iki popülasyonda da $AgNO_3$ 'süz ortamlarda sonuç alamazken, $AgNO_3$ 'lü ortamlardan sonuç almışlardır. Şanlıurfa popülasyonunda, 116 embriyo/100 tomurcuk ve 51.6 normal embriyo/100 tomurcuk sonuçları elde edilirken, Kahramanmaraş popülasyonunda sonuçlar, 35 embriyo/100 tomurcuk ve 35.7 normal embriyo/100 tomurcuk şeklinde olmuştur. Boyacı (2001) iki hibrid (Sirena F1 ve Amazon F1) ve üç standart biber çeşidinin (Demre Sivrisi, Bağcı Çarliston ve Yalova Çarliston) anter kültüründe, farklı besin ortamlarının (2,4-D ve kinetinli MS, N, C&R besin ortamları-aktif kömürlü ve aktif kömürsüz) etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda; Demre Sivrisi, Bağcı Çarliston, Yalova Çarliston ve Amazon F1 çeşitlerinde, sadece kallus oluşumu gözlemlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu, aktif kömür içermeyen C&R besin ortamında kaydedilmiştir. Kallustan bitki rejenerasyonu, sadece N besin ortamında gözlemlenmiştir (5 mg/L 2,4-D ve 5 mg/L kinetin). Embriyogenesis en iyi cevap, % 4.4 oran ile N ortamında (5 mg/L 2,4-D, 5 mg/L kinetin ve % 1 aktif kömür) gerçekleşmiştir. Sirena F1 ve Bağcı Çarliston çeşitlerinden embriyo ve sürgünler elde edilmiş, ancak bunların gelişimleri sağlanamamıştır. Ellialtioglu ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada, Kahramanmaraş biber popülasyonunda, aktif kömür ve havuç ekstraktı eklenmiş iki besin ortamı ve iki farklı inkübasyon koşulunun, anter kültürü üzerindeki etkisi denenmiştir. DDV (Dumas de Vault ve ark., 1981) kontrol ortamında, % 0.45 cevap veren anter ve embriyo, DDV+aktif kömür ortamından % 1.05 cevap veren anter ve embriyo, DDV+aktif kömür+havuç ekstraktı besin ortamından % 0.83 cevap veren anter ve % 1.17 embriyo; MS ortamında ise sadece kontrol besin ortamından % 0.66 cevap veren anter ve % 0.82 embriyo oranları ile sonuç alınabilmiştir. Her iki besin ortamının da tüm kombinasyonlarında, 35°C'de 8 gün karanlıkta bekletme ve sonra 25°C sıcaklığa aktarma uygulamasından sonuç alınamamıştır. Yukarıda verilen sonuçların tamamı, 29°C'de sürekli bekletme uygulamasından elde edilmiştir. Buyukalaca ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, $AgNO_3$ 'ün farklı dozlarının (5, 10, 15 ve 20 mg/L) ve donör bitki yetiştirme koşullarının (açık alan ve sera) anter kültürü üzerindeki etkisi, iki genotipin (Urfa: U-247 ve U-238) kullanımı ile araştırılmıştır. Çalışmada en başarılı sonuçlar, U-247 genotipinin seradan toplanan tomurcuklarının 15 mg/L $AgNO_3$ içeren besin ortamından elde edilmiştir. Genotiplerde, U-247 genotipinin tüm uygulamalardaki performans ortalaması 17.5 embriyo/100 anter olurken, U-238 genotipinin performansı 4.9 embriyo/100 anter olarak kaydedilmiştir. Rodeva ve ark. (2004) tarafından biber anter kültüründe genotip etkisi araştırılmış ve bu amaçla hatlar, çeşitler ve hibridlerin performansı ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Altı farklı hattın ortalaması; % 12.8 cevap veren anter, % 1.38 embriyogenesisle cevap veren, % 10.66 kallus oluşumu ile cevap veren, % 0.04 toplam anter sayısına regenerantlar, % 3.13 direk embriyo sayısına regenerantlar, altı çeşidin ortalaması; % 12.69 cevap veren anter, % 2.29 embriyogenesisle cevap veren, % 10.36 kallus oluşumu ile cevap veren, % 0.21 toplam anter sayısına regenerantlar, % 9.99 direk embriyo sayısına regenerantlar; dört farklı hibridin ortalaması; % 12.24 cevap veren anter, % 1.39 embriyogenesisle cevap veren, % 10.85 kallus oluşumu ile cevap veren şeklinde olmuştur. Ercan ve ark. (2006) donör bitki yetiştirme sezonunun ve bitki yaşının (kış için Kasım'dan Mayıs'a haftalık kültür, yaz için Nisan'dan Aralık'a haftalık kültür) biber anter kültürü üzerindeki etkisini, Kekova ve Sera Demre 8 biber çeşitlerinde araştırmışlardır. Kekova çeşidi; yaz sezonunda 4.97 embriyo/100 anter ve 2.26 bitki/100 anter, kış sezonunda ise 2.69 embriyo/100 anter ve 1.22 bitki/100 anter performansını göstermiştir. Sera Demre 8 çeşidinden ise yaz sezonunda 1.49 embriyo/100 anter ile 0.59 bitki/100 anter; kış sezonundan 4.26 embriyo/100 anter ve 1.36 bitki/100 anter sonuçları alınmıştır. Deneme sonuçları, farklı genotiplerin farklı zamanlarda daha iyi performans gösterdiğini doğrulamıştır. Çalışmada kullanılan çeşitlerin bir tanesi yaz döneminde, diğeri ise kış döneminde daha başarılı olmuştur. Çağlar ve ark (2004), Kahramanmaraş biberlerinde NAA (2.0, 4.0, 6.0 mg/L), 2,4-D (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L), BAP (0.1, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L) ve kinetin (0.1, 1.0, 5.0 mg/L)'in farklı dozlarını, aktif kömür (% 0.25) ve $AgNO_3$ (10 mg/L) ilaveli ve farklı ön uygulamalı (4°C karanlıkta, 29°C karanlıkta, 35°C karanlıkta) 37 adet denemelerinin, 0.1 mg/L BAP, 4 mg/L NAA, % 0.25 aktif kömür ve 10 mg/L $AgNO_3$ eklenmiş MS besin ortamı ve 327 adet anterle kurulan kısmında, kallus

gelişimi olmaksızın, % 2.8 oranında haploid embriyo gelişimi gözlemlenmiştir. Çalışmada, 327 adet anterin üç adedinden dokuz adet embriyo gelişimi gözlemlenmiş, embriyo oluşturan anter oranı 0.92 olmuştur. Diğer denemelerde ise toplam 2903 anter kullanılmış, bu anterlerden 117 adet kallus oluşturan anter gözlemlenmiş, ancak bu anterlerden embriyo elde edilememiştir. Kallus oluşturan anter sayısı 4.03 anter/100 anter olmuştur. Ercan ve Ayar Şensoy (2011) tarafından biberin anter kültüründe genotip etkisinin araştırıldığı çalışmada; Atris çeşidinde 0.33 embriyo/100 anter, % 39.10 kallus oluşturan anter sayısı, 0.32 bitki/100 anter; Odesa çeşidinde 3.01 embriyo/100 anter, % 44.15 kallus oluşturan anter, 0.67 bitki/100 anter; Demre çeşidinde 1.30 embriyo/100 anter, % 19.48 kallus; DRH-7118 çeşidinde 0.73 embriyo/100 anter, % 21.10 kallus oluşturan anter; Yağlık biber’de 1.97 embriyo/100 anter, % 39.76 kallus oluşturan anter, 0.39 bitki/100 anter; Yalova Charleston’da % 17.31 kallus oluşturan anter; Kandil’de % 34.35 kallus oluşturan anter; Demre Sivrisi’nde 7.69 embriyo/100 anter, % 19.41 kallus oluşturan anter, 2.20 bitki/100 anter; Sirena’da 0.35 embriyo/100 anter, % 29.37 kallus oluşturan anter, 0.35 bitki/100 anter; Kekova’da 1.50 embriyo/100 anter, % 33.83 kallus oluşturan, 0.43 bitki/100 anter; Sera-Demre 8’de 2.26 embriyo/100 anter, % 28.51 kallus oluşturan anter, 1.13 bitki/100 anter elde edilmiştir. Alremi ve ark. (2014) tarafından B, 151 ve 171 no’lu biber genotipleri ile Suriye’de kullanılan Alfajer çeşidi ve 16 farklı besin ortamı ile yapılan anter kültürü çalışmasında, Alfajer biber çeşidinde 1.32 embriyo/100 anter, 0.90 bitki/100 anter; B biber genotipinde 1.33 embriyo/100 anter, 1.26 bitki/100 anter; 171 no’lu biber genotipinde 0.24 embriyo/100 anter, 0.16 bitki/100 anter ve 151 no’lu biber genotipinde 0.57 embriyo/100 anter ile 0.42 bitki/100 anter gözlemlenmiştir. Olszewska ve ark. (2014) farklı biber çeşit ve genotipleri, bunların F1’leri, farklı hatlar, farklı biber türleri (*C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*), farklı türlerin melezlenmesiyle oluşan F1’ler ve dihaploid hatlarda anter kültürü denemeleri yapmışlar ve değişken sonuçlar elde etmişlerdir. Bu denemeler esnasında, farklı kinetin dozları ve anterlerin farklı inkübasyon süreleri de test edilmiştir. Farklı türlerden sadece *C. frutescens*’de 16 gün inkübasyonda 0.1 mg/L kinetinde % 1.54, 0.3 mg/L kinetinde ise % 0.77 oranında başarı elde etmişlerdir. En yüksek sonuçlar, 16 gün inkübasyon 0.1 mg/L kinetinde AC7 dihaploid hattında % 6.15 olarak ve takibinde 16 gün inkübasyonda 0.1 mg/L kinetinde F1 (ATZ × PO) bitkilerinde % 4.62 olarak tespit edilmiştir. Ozsan & Onus (2017), dört farklı biber çeşidinin anter kültüründe, vitamin B bileşiklerinin etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında denenen altı farklı besin ortamında, Belissa çeşidinde 3.73 embriyo/100 anter, 2.67 bitki/100 anter, 7.66 kallus oluşturan anter/100 anter; Benino çeşidinde 1.15 embriyo/100 anter, 0.39 bitki/100 anter, 0 kallus oluşturan anter/100 anter; Kanyon çeşidinde 0.19 embriyo/100 anter, 0.19 bitki/100 anter, 0.38 kallus oluşturan anter/100 anter ve Filinta çeşidinde 0.16 embriyo/100 anter, 0.17 bitki/100 anter, 0 kallus oluşturan anter/100 anter kaydetmişlerdir. Çalışma sonucunda, farklı vitamin B bileşiklerinin androgenesis olumlu etkilediğini tespit etmişlerdir. Ozsan & Onus (2018), dört farklı biber çeşidi ve 12 farklı besin ortamı kombinasyonu kullanarak, anter kültürü çalışması yapmışlardır. Temel besin ortamı olarak MS ve Gamborg B5’i kullanmışlar ve aynı zamanda glutamin etkisini de test etmişlerdir. Çalışma sonucunda, Erciyes ve Filinta çeşidinde embriyo elde edilememiş; Belissa çeşidinde 34.46 embriyo/100 anter, 0.58 bitki/100 anter ve Ergenekon çeşidinde 30.0 embriyo/100 anter ile 0.61 bitki/100 anter kaydedilmiştir. Gelişen anter yüzdesi ise Erciyes çeşidinde % 57.10, Belissa çeşidinde 42.79, Filinta çeşidinde % 70.74 ve Ergenekon çeşidinde % 58.69 olmuştur. Glutaminin androgenesis üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu da gözlemlenmiştir. Ata ve ark. (2019) tarafından üç biber genotipi, bir çeşidi ve iki farklı besin ortamında bir sene süresince her ay tekrarlanan anter kültürü çalışmasında, Inan3363 çeşidinden 22.14 embriyo/100 anter, 12.17 embriyo oluşturan anter/100 anter; genotip 277A’dan 10.01 embriyo/100 anter, 5.30 embriyo oluşturan anter/100 anter, genotip 195’de 4.29 embriyo/100 anter, 2.13 embriyo oluşturan anter/100 anter ve genotip 421’de 1.40 embriyo/100 anter ile 1.19 embriyo oluşturan anter/100 anter elde etmişlerdir. Shimira ve ark. (2019b), Ruanda’dan temin edilen Pili-Pili (*C. chinense*) çeşidinin anter kültürü performansını, bir Türk genotipi (A111) ve çeşidi (Inan 3363) ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir (iki Türk materyali, *C. annuum*’a aittir). İki Türk genotipinden, Inan 3363 çeşidinde 19.4 embriyo/100 anter kaydedilirken, A111 genotipinden 4.46 embriyo/100 anter tespit edilmiştir. Ata ve ark. (2019)’nın çalışmasında da Inan 3363 çeşidinin anter kültürü performansı araştırılmış ve iki farklı besin ortamının ve 12 ay deneme tekrarının ortalaması 22.14 embriyo/100 anter olmuştur. Ancak bu çeşit bazı ay ve besin ortamlarında, % 60’ın üzerinde de performans göstermiştir. Shimira ve ark. (2019b)’nin araştırmasında Inan 3363 çeşidinin seçilmesi nedeni, Ata ve ark. (2019)’nın denemelerinde yüksek performans göstermesi olmuştur. Shimira ve ark.

(2019a) tarafından yapılan ve 2 farklı nematoda dayanıklı olarak tespit edilen biber genotipinin anter kültürüne tepkisinin belirlenmesinin hedeflendiği çalışmada; Alata 2095 genotipinde 45.51 embriyo/100 anter, 39.04 bitki/100 anter ve Alata 2096 genotipinde 2.25 embriyo/100 anter, 1.97 bitki/100 anter kaydedilmiştir. Tüm bu çalışmalarda açıkça görülebildiği gibi, biberde anter kültüründe genotip etkisi yüksektir. Bazı genotiplerin, aynı besin ortamında ve aynı koşullarda anter kültürüne tepkisi olumlu olurken, bazı genotiplerinki zayıf kalabilmektedir. Tepkisi zayıf olan genotipler, farklı dozlardaki büyümeyi düzenleyicilerle desteklenmiş besin ortamlarında veya farklı zamanlarda (sezonlarda) kültüre alındığında veya farklı ön uygulamalara maruz bırakıldığında (Ata ve ark., 2019) performansları yükselebilmektedir. Örneğin, sıcak koşullara adapte genotipler, Temmuz-Ağustos gibi sıcak aylarda (normalde Akdeniz iklim kuşağı ülkeleri için tavsiye edilmeyen dönemler) androgenesise yüksek tepki verebilmekte ya da soğuğa dayanıklı genotipler, normalde çoğu genotipten tepki alınmayan Aralık-Ocak gibi soğuk aylarda yüksek performans (Ata ve ark., 2019) gösterebilmektedir. Büyümeyi düzenleyicilerin tipi ve konsantrasyonu da, kültür sezonuna veya genotipe göre değişebilmektedir (Ata, 2011). Sunulan bu çalışmada da genotiplerin anter kültürüne cevabı açısından, önemli farklılıklar görülmüştür (Çizelge 3). İstatistiksel analizler, sadece anter kültürüne tepkiyi karşılaştırmada en belirleyici hesaplama yöntemi olan, tekerrür ortalaması embriyo sayısı/100 anter değerlerine uygulanmıştır. Bitki sayıları da, karşılaştırmada önemli bir faktördür. Bu çalışmada, embriyo sayısı ile bitki sayıları aynı olduğu için, istatistiksel analizler ayrıca bitki sayılarına uygulanmamıştır. FT-509 no'lu genotip, diğer genotiplere nazaran önemli derecede yüksek performans gösterirken, FT-1178 androgenesise en düşük cevabı vermiştir.

Koleva-Gudeva ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; dokuz biber çeşidinin androgenesis tepkisi araştırılmıştır. Feferona, Slatko Luta, Vezena Luta, Sivrija, Zlaten Medal, Kurtovska Kapija, California Wonder, Rotund ve Féherözön çeşitlerinden; Feferona, Vezena Luta, Sivrija ve Rotund çeşitleri anter kültürüne tepki vermemiş; Slatko Luta çeşidi % 2.43 embriyogenik anter ve 3.33 embriyo/100 anter, Zlaten Medal çeşidi % 3.31 embriyogenik anter ve 3.66 embriyo/100 anter, Kurtovska Kapija çeşidi % 1.55 embriyogenik anter ve 2.66 embriyo/100 anter, California Wonder çeşidi % 6.16 embriyogenik anter ve 5.66 embriyo/100 anter ve Féherözön çeşidi % 33.66 embriyogenik anter ve 55.36 embriyo/100 anter oranlarında tepki vermişlerdir. Araştırmacılar çeşitleri anter kültürüne cevapları açısından kendi aralarında gruplamışlar; bu bağlamda Feferona, Vezena Luta, Sivrija ve Rotund çeşitleri cevap vermeyenler; Slatko Luta, Zlaten Medal ve Kurtovska Kapija çeşitleri zayıf cevap verenler; California Wonder çeşidi orta-iyi cevap veren ve Féherözön çeşidi çok iyi-mükemmel cevap veren olarak gruplandırılmıştır. Buna benzer şekilde sunulan bu çalışmada da; FT-509 no'lu genotipin anter kültürü performansı 44.44 embriyo/100 anter ile yüksek; FT-508, FT-1181, FT-905, FT-501, FT-1179, FT-1174, FT-908, FT-507, FT-1173, FT-1180, FT-1182, FT-903, FT-901, FT-1183 FT-907 ve FT-263 genotiplerinin anter kültürü performansı 11.47-23.61 embriyo/100 anter ile orta; FT-900, FT-500, FT-906, FT-902, FT-1175 ve FT-1178 genotiplerinin performansı 0.83-9.87 embriyo/100 anter ile düşük olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Niklas-Novak ve ark. (2012) ('ATZ1' × 'TG') F2 hibridinin 20 adet bitkisinin, bireysel olarak anter kültürü performanslarını değerlendirmişlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, 0.5 ile 16.5 embriyo/100 anter arasında değişmiş, ortalama 3.53 embriyo/100 anter olmuştur. Bu çalışma, anter kültürüne cevabın genotipin yanı sıra, aynı genotip içerisindeki bitkilerde bile değişken olduğunu göstermektedir.

Sonuçlar özetlenecek olursa, FT-509 no'lu genotip, 44.44 embriyo/100 anter ile en yüksek performansı göstermiştir. FT-509 no'lu genotipe anter kültürüne cevap açısından en yakın olan FT-508'in 23.61 embriyo/100 anter olan tepkisi ile kıyaslanacak olursa, denenen 23 genotip içerisinde FT-509 no'lu genotipin kendisine en yakın olan genotipin bile neredeyse iki katı değerinde performans gösterdiği açıkça görülmektedir. FT-1178 genotipi, 0.83 embriyo/100 anter ile androgenesise en düşük tepkiyi vermiştir. Bu genotipin gerçekten anter kültürüne tepki açısından inatçı olup olmadığını görebilmek için, farklı besin ortamları ve farklı büyümeyi düzenleyici konsantrasyonları ile denemeler yapılabilir. FT-1175 (3.57 embriyo/100 anter), FT-902 (4.58 embriyo/100 anter), FT-906 (7.12 embriyo/100 anter), FT-500 (9.37 embriyo/100 anter) ve FT-900 (9.87 embriyo/100 anter) genotipleri de, diğer genotiplere göre düşük performans göstermişlerdir. Ancak FT-1178 ile karşılaştırıldığında, bu genotiplerin en düşük değerini veren FT-1175 bile, FT-1178'in üç katından fazla embriyo üretmiştir. Bu çalışmada kullanılan genotiplerin androgenesis etkinliklerinin belirlenmesi ve bu genotiplerden dihaploid bitkilerin elde edilmesi ile özel firma tarafından yürütülen ıslah çalışmaları hızlandırılmıştır.

Biberde, anter kültürüne genotiplerin tepkisi değişken olmaktadır. Bu değişkenlikte genotiplerin genetik yapıları, donör bitki yetiştirilme koşulları, yetiştiricilik sezonu, besin ortamı ve besin ortamına ilave edilen büyümeyi düzenleyicilerin tipi ve konsantrasyonu gibi faktörler etkili olmaktadır. Bazı genotiplerin, bazı besin ortamı ve yetiştiricilik sezonlarında androgenesise cevabı düşük olurken, farklı besin ortamı ve dönemlerde performas yükselebilmektedir. Bu nedenle, sunulan bu çalışmada anter kültürüne cevabı düşük olarak tespit edilen genotiplerin, farklı besin ortamlarında da denenmesi önerilebilir. Benzer şekilde sezon etkisinin olup olmadığının anlaşılabilmesi için, genotiplerin yüksek sıcaklığa/düşük sıcaklığa tolerans/hassaslık durumları kontrol edilerek, daha uygun kültüre alma zamanları kontrol edilebilir.

Teşekkür

Çalışmanın yürütüldüğü ARGEERA Bilimsel Araştırma Geliştirme Üretim Danışmanlık San. ve Tic. Ltd. Şti. (Antalya)'ne ve bitkisel materyallerini kullandığımız Semillas Fitó (İspanya)'ya destekleri için teşekkür ederiz. Değerli fikirlerinden faydalandığımız ve 07 Ocak 2019 tarihinde aramızdan ayrılan ancak kalbimizde yaşayan çok kıymetli hocamız Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA'ya da sonsuz teşekkürlerimizi ve minnetimizi sunarız.

Kaynakça

- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S., & Ellialtıoğlu, Ş. (2014). Biber (*Capsicum annuum* L.)'de genotip ve besin ortamının anter kültürüne etkileri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(2), 108-116.
- Ata, A. (2011). *Biberlerde (Capsicum annuum) anter kültüründe mevsim etkisi ve mikrospor gelişimi*. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye.
- Ata, A., Keleş, D., Taşkın, H., & Büyükalaca, S. (2019). Effects of season, genotype, and nutrient medium on pepper anther culture and microspore development. *Turk. J. Agric. For.*, 43, 123-137.
- Boyacı, H. F. (2001). *The effects of different culture media added activated charcoal on production of haploid plant via anther culture of pepper (Capsicum annuum L.)*. (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan, editors). Paper presented at the Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 137-141.
- Buyukalaca, S., Comlekcioglu, N., Abak, K., Ekbic, E., & Kılıc, N. (2004). Effect of silver nitrate and donor plant growing conditions on production of pepper (*Capsicum annuum* L.) haploid embryos via anther culture. *Eur. J. Hortic. Sci.*, 69(5), 206-209.
- Çömlekçioglu, N., & Ellialtıoğlu, Ş. Ş. (2018). Review on the Research carried out on *in vitro* Androgenesis of Peppers (*Capsicum annuum* L.) in Turkey. *Res. J. Biotechnol.*, 13(6), 75-84.
- Comlekcioglu, N., Buyukalaca, S., & Abak K. (2001). *Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (Capsicum annuum L.)*. (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan, editors). Paper presented at the Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 133-136.
- Çağlar, Ç., Aras, V., & Bayram, A. (2004). Kurutmalık kırmızı biberlerde androgenesis yoluyla *in vitro* haploid embriyo uyartımı. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(1), 87-94.
- Dumas de Vaulx, R., Chambonnet, D., & Pochard, E. (1981). *In vitro* anther culture in red pepper (*Capsicum annuum* L.): improvement of the rate of plant production in different genotypes by treatments at 35°C. *Agronomie*, 1, 859-864.
- Ellialtıoğlu, S., Kaplan F., & Abak, K. (2001). *The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper*. (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan, editors). Paper presented at the Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 142-145.
- Ercan, N., & Ayar Şensoy, F. (2011). Androgenic responses of different (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2), 59-61.

- Ercan, N., Ayar Sensoy, F., & Sensoy, A. S. (2006). Influence of growing season and donor plant age on anther culture response of some pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Sci. Hortic.*, *110*(1), 16-20.
- Eroğlu, İ., Çamoğlu, G., & Demirel, K. (2020). Termografi Tekniği ile Biber Bitkisinde Su Stresinin ve Bazı Fizyolojik Özelliklerin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, *30*(3), 486-497.
- FAO. (2018). *Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Erişim Tarihi: 14.12.2019.
- Keleş, D., Pınar, H., Ata, A., Taşkın, H., Yıldız, S., & Büyükalaca, S. (2015). Effect of pepper types on obtaining spontaneous doubled haploid plants via anther culture. *Hort Science*, *50*(11), 1671-1676.
- Koleva-Gudeva, L. R., Spasenoski, M., & Trajkova, F. (2007). Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media. *Sci. Hortic.*, *111*, 114-119.
- Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, *15*, 473-497.
- Niklas-Nowak, A., Olszewska, D., Kisiala, A., & Nowaczyk, P. (2012). Study of individual plant responsiveness in anther cultures of selected pepper (*Capsicum* spp.) genotypes. *Folia Horticulturae*, *24*(2), 141-146.
- Olszewska, D., Kisiala, A., Niklas-Nowak, A., & Nowaczyk, P. (2014). Study of *in vitro* anther culture in selected genotypes of genus *Capsicum*. *Turk. J. Biol.*, *38*, 118-124.
- Ozsan, T., & Onus, N. (2017). *In vitro* Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anther Culture: Can be Affected Via Vitamins B?. *Biotechnology Journal International*, *20*(1), 1-13.
- Ozsan, T., & Onus, A.N. (2018). Does Glutamine Promote the Development of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anthers *in vitro*? *Journal of Scientific and Engineering Research*, *5*(11), 228-236.
- Öntürk, G., & Çürük, S. (2019). Hatay'ın Farklı İlçelerinde Yetiştirilen Biber Köy Popülasyonlarında Bitki ve Meyve Özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, *29*(4), 689-701.
- Rodeva, V. N., Irikova, T. P., & Todorova, V. J. (2004). Anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.): Comparative study on effect of the genotype. *Biotechnol. Biotec. Eq.*, *18*(3), 34-38.
- Shimira, F., Yıldız, S., Baktemur, G., Keleş, D., Aydın, M. Z., Büyükalaca, S., & Taşkın, H. (2019a). Investigation of Androgenesis Capacity of Rwandan Pili-Pili Variety (*Capsicum chinense* L.) in Turkey. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *24*(3), 170-175.
- Shimira, F., Keleş, D., Taşkın, H., & Abak, K. (2019b). The Assessment of Androgenic Response of Two Nematode Resistant Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, *7*(12), 2103-2110.
- Taşkın, H., Büyükalaca, S., Keleş, D., & Ekbiç, E. (2011). Induction of microspore-derived embryos by anther culture in selected pepper genotypes. *Afr. J. Biotechnol.*, *10*(75), 17116-17121.
- TÜİK. (2018). *Türkiye İstatistik Kurumu*. <http://www.tuik.gov.tr> Erişim Tarihi: 14.12.2019



Research Article (Araştırma Makalesi)

Effect of Cutting Time and IBA Application on the Rooting of Goji Berry Cuttings

Hüseyin ÇELİK^{*1}, Figen ÇETİN²

¹Ondokuz Mayıs University, Agricultural Faculty, Horticultural Department 55139, Samsun, Turkey

²DSİ Bölge Müdürlüğü, Aksaray, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-1403-7464> ²<https://orcid.org/0000-0002-7632-5042>

*huscelik@omu.edu.tr

Article Info

Received: 23.02.2021

Accepted: 24.05.2021

Online Published :30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.885250

Keywords

Cutting time,

IBA,

Rooting rate,

Sapling rate,

Wolfberry.

Abstract: This study was carried out between 2017-2018 and goji berry (*Lycium barbarum* L.) varieties were propagated with cuttings. In this study, the effects of cutting take time and indole-3-butyric acid (IBA) doses on rooting, shooting, root and shoot characteristics were investigated. Cuttings collected from Damaye and NQ7 goji berry cultivars grown in Karkin Village of Aksaray Province from the year of 2015. Cuttings collected at 4 different times (August-15, October-15, December-15 and February-15) and applied with 4 different IBA doses (0, 500, 1000 and 2000 ppm). They planted in trays with perlite medium under misting and bottom heating for rooting. The study planned with three replication and 25 cuttings for each replication under randomised complete block design under greenhouse. Cuttings were mowed after two months and alive cutting rate (%), rooting rate (%), transplantation and sapling rate (%) were determined. The highest rooting rate (88.00%) obtained from Damaye cuttings taken in August and 1000 ppm IBA dose applied. Damaye cuttings rooted good than NQ7 and August is the best cutting time and 1000 ppm IBA is the best application for all investigated characteristics.

Çelik Alma Zamanı ve IBA Uygulamalarının Goji Berry Çeliklerinde Köklenme Üzerine Etkileri

Makale Bilgileri

Geliş : 23.02.2021

Kabul : 24.05.2021

Online Yayınlanma :30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.885250

Anahtar kelimeler

Celik,

Zaman,

IBA,

Köklenme oranı,

Fidan randımanı,

Goji berry.

Öz: Bu çalışma 2017-2018 yılları arasında yapılmış ve goji berry (*Lycium barbarum* L.) çeşitleri çelik ile çoğaltılmıştır. Çalışmada, çelik alma zamanı ve Indole-3-bütirik asit (IBA) dozlarının goji berry çeliklerinde köklenme ve fidan randımanı (%) üzerine etkileri belirlenmiştir. Denemede, Aksaray İli Karkin Köyü'nde yetiştirilen 3 yaşındaki Damaye ve NQ7 goji berry çeşitlerinden 4 farklı zamanda (Ağustos-15, Ekim-15, Aralık-15 ve Şubat-15) alınan çeliklere 4 farklı IBA dozu (0, 500, 1000 ve 2000 ppm) uygulanmış ve alttan ısıtmalı tavalardaki perlit içine dikilerek mistleme sulama sistemi altındaki yüksek tünelde köklendirilmişlerdir. Tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulan denemede her tekerrürde 25 Çelik kullanılmıştır. Çelikler dikimden iki ay sonra sökülerek canlı Çelik oranı (%), köklenme oranı (%), şaşırtılan çelik oranı (%) ve fidan randımanı (%) değerleri tespit edilmiştir. En yüksek köklenme oranı (% 88.00) Ağustos ayında alınan ve 1000 ppm IBA uygulanan Damaye goji berry çeşidi çeliklerinden elde edilmiştir. İncelenen tüm özellikler bakımından Damaye çeşidi çelikleri NQ7 çeşidi Çeliklerinden daha yüksek değerler verirken çelik alma zamanı bakımından Ağustos ayında alınan çeliklerin, IBA dozu bakımından ise 1000 ppm dozunun en yüksek sonuçları verdiği saptanmıştır.

1. Introduction

Goji berry or wolf berry is an alternative and super foods with its antioxidant rich healthy berries. Gojiberry (*Lycium barbarum*) included in the *Solanaceae* family and have shrubby plant with red colored and soft fruits. Goji berries are generally consumed as dried fruit and used to flavor or color agent for chocolate, cake, desserts, salads, muesli and cosmetics (Potterat, 2010; Amagase et al., 2011, Celik and Yayla Cetin, 2017). Fadiloğlu and Çoban stated that goji berry acted as a natural antioxidant and retarded lipid oxidation of common carp sausages during 28 days of storage. Goji berry can be propagated by cuttings or seed. It has been tried to determine how the most ideal plants can be produced from seeds taken from goji berries with a study by Yılmaz and Kinay (2013). Feng et al. (2000) propagated the *Lycium chinense* types with cutting and found that green wood cuttings were not rooting, and that treatment of semi-wood or lignified hard wood cuttings with 200 ppm NAA or IBA for 0.5-1.0 hours positively affected rooting. Alsup et al. (2004) stated that auxin application increased the rooting rate but also decreased the root length, and that different doses and times of cutting should be tried. As a matter of fact, Yılmaz and Yıldız (2020), who propagated some bush-type plants with cuttings, also found that the rooting in the cuttings they applied with 2000-8000 ppm IBA had a different effect on the species. They also determined that the effects of IBA doses on the rooting of cuttings taken at different times were also different. Demchak (2014), stating that goji berries are propagated as seeds or vegetatively. They stated that the plants obtained from the seed may differ in terms of phenological, morphological and fruit characteristics, and the types or varieties should be propagated by cuttings. Asanica et al. (2016), who propagated *Lycium barbarum* and *Lycium chinense* types with hard wood cuttings, found that the cutting thickness positively affected shoot length and root volume, increased peat root quality, Razormin and 1500 ppm IBA doses gave good results. Lonnee et al. (2011) stated that the cuttings of plants in shrubs are well rooted in perlite and peat (3:1 v/v) medium, appropriate moisture content, excessive water retention and bottom heating (21-25°C) in the rooting environment. It also stated that leafy cuttings taking in spring and summer can be rooted easily under the misting system. Goji berry was successfully propagated using semi-hardwood cuttings and the propagation coefficient was higher than that for hardwood cuttings. Preplanting treatment with IBA or NAA at 150, 250 or 500 p.p.m. promoted rooting, the rooting percentage being 84-96% compared with 0-5% for the control. The season of cutting preparation had little effect on rooting. When transplanted into the open field, more than 85% of the rooted cuttings survived and became established (Shen and Chen, 1990). Hartmann et al. (2014) stated that rooting is much better in reproducing the species with green leafy or semi-hard wood leafy cuttings taken from ornamentals compared to deciduous species and 1000-3000 ppm IBA application also positively affects rooting. Beyl et al. (2015) stated that the injuries to the bottom of the cuttings and etiolation are also effective on rooting, and they found that these applications accelerate rooting and the cuttings form roots more easily. On the other hand, it has been revealed by the same researchers that rooting will not occur without IBA application in species that are difficult to rooting and etiolation has more effect on rooting than wounding. Beyl et al. (2015), who determined that the auxin group hormones that encourage rooting, the cutting type and the cutting take time and the age of the mother plant are also significant in the reproduction of bush plants such as ornamentals. Beyl et al. (2015) stated that the best rooting medium is 3-4 parts perlite and 1 part of peat or peat and vermiculite mixture.

In this study, the effects of the cutting taking time and IBA doses on propagating the goji berries, which promises an important future for our country's economy and human health, were investigated. For this purpose, the effects on the rooting of the cuttings were determined by using four different IBA doses (0, 500, 1000 and 2000 ppm) from the cuttings taken in four different times from 15 August to 15 February.

2. Material and Methods

2.1. Plant Materials

In this study, hard-wood or leafy semi-hardwood cuttings of 15-20 cm length and 1 cm diameter taken from 3-year-old NQ7 and Damaye goji berry varieties grown in Aksaray Province, Kargin Village were used as plant material. Goji berry is one of the fruits with the highest nutritional value and was

used as a food source and medicine locally in East Asian countries. It has become a functional food that continues to increase in popularity in North America and Europe (Potterat, 2010). Goji berry is a common name given to *Lycium barbarum*, *Lycium chinense* and *Lycium ruthenicum* species belonging to the genus *Lycium* in the *Solanacea* family (Wang et al., 2015). Plants belonging to the *Lycium* genus are generally in the form of a thorny bush and grow up to 1-4 m. Goji berry is a deciduous perennial shrub with a developed root system. Moreover, it is highly resistant to many climatic and environmental conditions due to its high tolerance to stress factors such as salty and alkaline soil (Wei et al., 2006). The leaves are gray-green in color, small, narrow and fleshy, arranged in alternating or fascicular forms. Flowers come out of the stem singly or in clusters. Funnel or bell-shaped petals; It can be in white, green and purple colors. Fruits containing several or more seeds inside are two-part, 2 cm long, generally fleshy and juicy, and are red, orange, yellow or black (Bryan et al., 2008). Its fruits are bitter or sweet and it is estimated that the original habitat of *L. barbarum* could be the Mediterranean basin. While *Lycium* species produces fleshy fruit containing more than 10 seeds, some American varieties produce hard fruit with 2 seeds (Levin et al., 2005; Potterat, 2010).

2.2. Methods

Cuttings were taken in 4 different times (August-15, October-15, December-15 and February-15) and applied with Indole-3 butyric acid (IBA) doses (0, 500, 1000 and 2000 ppm) and rooted in perlite in bottom heated (24°C) trays. In the cuttings planted in the perlite medium in the trays established in the polyethylene covered high tunnel and under the automatic controlled misting irrigation system. The ambient humidity was kept above 70% and the temperature above 22°C, and the greenhouse was taken under control with ventilation and shading applications. In the cuttings removed three months after planting date, alive cuttings and rooting rate (%) and transplanted rooted cuttings rate (%) determined. Rooted cuttings transplanted in to the pots and grown under greenhouse conditions at the end of the vegetation periods and sapling rate (%) measurements were also determined (Figure 1 and 2).

The goji berry cuttings taken for rooting in perlite environment in bottom heated trays in the plastic greenhouse were removed two months after the planting date and the following measurements and observations were made. The rooted cuttings were taken to grow in the greenhouse environment by planting in the sapling bags.

- *Alive cutting ratio (%)*: It is determined as the ratio of alive cutting in each recurrence to the total number of the cutting.
- *Rooting rate (%)*: It was determined as the ratio of the rooting cuttings in each repeat to the total number of the cuttings.
- *Transplanted cuttings ratio (%)*: It was determined as the ratio of the number of the cuttings to the total number of cuttings among the cuttings in each repetition two months after the planting date.
- *Sapling Ratio (%)*: It was determined as the ratio of the total number of living plants to the total number of transplanted plants six months after the transplanting procedure.

2.3. Statistical Analyses

In the experiment, which was established in a polyethylene covered high tunnel with 3 replications according to the randomized blocks design, 25 cuttings were used for each replication. Data as percent obtained from the experiment, transformed by using $\arcsin\sqrt{x}$ transformation and the statistical analyzes were made on these transformed data. The data obtained from the experiment were subjected to variance analysis using the SPSS program (SPSS, 2017), and the differences between the averages were evaluated at the level of 1% with Duncan Multiple Range Test.



Figure 1. Collecting the goji berry shoots, preparation the cuttings and planting them into the perlite medium with bottom heated trays under high tunnel environment.



Figure 2. Removing the rooted and shooted goji berry cuttings from the benches and taking observations and measurements.

3. Results and Discussion

Goji berry could be propagated by cuttings for clonal sapling production and genetic stability. In the presented study the changes according to the cutting time, IBA dose and goji berry cultivars interaction of alive cuttings, rooting, transplanted rooted cuttings and sapling rates (%) in goji berry (*Lycium barbarum* L.) cuttings taken at different times and treated with different doses of IBA given in Table 1. It was determined that the alive cutting ratio (100.00%), rooting and transplanted rooted cuttings ratio (88.00) and sapling rate (82.67%) were found to be the highest in the cuttings taken from Damaye goji berry variety in August and applied 1000 ppm IBA dose. On the other hand, it was determined that the rate of alive cutting in Damaye variety, which was taken in December and applied with 2000 ppm IBA dose, remained at the lowest level with 2.67%, in this application there was no rooting and the sapling ratio was 0.00% (Table 1). This situation was similar for cuttings collected from the NQ7 variety in December.

According to the interaction of variety and cutting time, survival rate (90.33%), rooting and transplanting rate (67.00%) and sapling rate (47.00%) were the highest in cuttings taken from Damaye goji berry variety in August. On the other hand, survival, rooting, transplanted and sapling rate were the lowest with 23.67%, 1.50%, 3.00% and 0.67%, respectively in cuttings taken in December from NQ7 variety (Table 2).

Considering the variety and IBA doses, it was revealed that cuttings obtained from Damaye variety with 1000 ppm IBA dose gave the highest values with survival rate (62.67%), rooting and transplanted rooted cuttings ratio (34.67%) and sapling rate (29.33%). On the other hand, the survival rate (45.33%) in the cuttings belonging to the NQ7 variety applied with 2000 ppm IBA dose was the lowest, while the control cuttings of the same variety did not have any IBA in terms of rooting (9.83%), transplanted cutting (11.33%) and seedling rate (4.33%). It has also been found to give the lowest values (Table 3).

According to the cutting time and IBA dose interaction, it was determined that August x 1000 ppm IBA application gave the highest values with the ratio of surviving cuttings (90.67%), rooting and transplanted cuttings ratio (70.67%) and sapling rate (59.33%). On the other hand, it was determined that December x 2000 ppm IBA application gave the lowest alive cutting rate with 9.33%, these cuttings

were not rooted and the seedling rate was 0.00% (Table 4). Shen & Chen (1990) stated that pre-planting treatment with IBA or NAA at 150, 250 or 500 p.p.m. on green-wood cuttings of goji berry, promoted rooting, the rooting percentage being 84-96% compared with 0-5% for the control. Our findings are lower than these results and that affected from the cutting time, type and cultivars.

The survival, rooting and seedling rate of cuttings are also different according to the varieties, and the survival rate (54.25%), rooting rate (23.17%) and seedling rate (15.17%) of the cuttings belonging to the Damaye variety are better than NQ7 variety cuttings (52.08%, 15.50% and 7.42%, respectively) (Figure 3.) It was determined that August cuttings reached much higher values than other times in terms of all properties examined for cutting taking time. It was revealed that the cuttings purchased in the following months gave lower values in terms of all properties and the values especially in the cuttings purchased in December reached the lowest values (Figure 4). According to this, while 81.50% of the August cuttings remained alive during the trial, 52.83% of them were rooted and after all the rooting cuttings were transplanted, 35.01% of them turned into saplings at the end of vegetation period.

Table 1. Variation of alive cuttings ratio (%), rooting rate (%), transplanted cuttings ratio (%) and sapling ratio (%) of goji berry cuttings taken from different varieties at different times and treated with different concentrations of IBA

Cultivar	Cutting Time	IBA	Alive Cutting Ratio (%)	Rooting Rate (%)	Transplanted cuttings ratio (%)	Sapling Ratio (%)
Damaye	August	0	90.67 b*	49.33cd	49.33 cd*	24.00 cde
		500	90.67 b	72.00 b	72.00 b	48.00 b
		1000	100.00 a	88.00 a	88.00 a	82.67 a
		2000	80.00 b-c	58.67 bc	58.67 bc	33.33 bc
	October	0	37.33 g-k	0.00 j	0.00 j	0.00 i
		500	50.67 fgh	18.67 ef	18.67 ef	9.33 efg
		1000	86.67 bc	40.00 cd	40.00 cd	32.00 bcd
		2000	66.67 def	10.67 fgh	10.67 fgh	2.67 ghi
	December	0	32.00 h-l	0.00 j	0.00 j	0.00 i
		500	30.67 h-l	5.33 hij	5.33 hi	1.33 i
		1000	24.00 jkl	5.33 g-j	5.33 g-j	0.00 i
		2000	2.67 m	0.00 j	0.00 j	0.00 i
	February	0	50.67 fgh	5.33 g-j	5.33 g-j	4.00 f-i
		500	26.67 i-l	5.33 f-i	5.33 f-i	0.00 i
		1000	40.00 g-k	5.33 f-i	5.33 f-i	2.67 ghi
		2000	58.67 efg	6.67 f-i	6.67 gi	2.67ghi
NQ7	August	0	58.67 efg	12.00 fgh	12.00 fgh	9.33 efg
		500	58.67 c-f	32.00 de	32.00 de	13.33 def
		1000	60.00 bcd	53.33 c	53.33 c	36.00 bc
		2000	42.67 b-e	57.33 bc	57.33 bc	33.33 bcd
	October	0	24.00 efg	8.00 f-i	8.00 f-i	5.33 f-i
		500	22.67 efg	12.00 fgh	12.00 fgh	6.67 fgh
		1000	32.00 d-g	2.67 ij	2.67 ij	2.67 ghi
		2000	16.00 g-j	9.33 f-i	9.33 f-i	2.67 ghi
	December	0	69.33 jkl	3.33 hij	9.33 hij	2.67 ghi
		500	68.00 kl	2.67 hij	2.67 hij	0.00 i
		1000	48.00 h-l	0.00 j	0.00 j	0.00 i
		2000	16.00 l	0.00 j	0.00 j	0.00 i
February	0	69.33 def	16.00 fg	16.00 fg	0.00 i	
	500	68.00 def	14.67 fg	14.67 fg	5.33 f-i	
	1000	48.00 f-i	9.33 f-i	9.33 f-i	1.33 i	
	2000	42.7 g-j	9.33 f-i	9.33 f-i	0.00 i	

* There is no difference according to 1% between the averages in the same column and marked with the same letter.

Table 2. The variation of alive cuttings ratio (%), rooting rate (%), transplanted cuttings ratio (%) and sapling ratio (%) of goji berry cuttings according to cultivar and cutting taking time interaction

Cultivar	Cutting Time	Alive Cutting Ratio (%)	Rooting Rate (%)	Transplanted Cuttings Ratio (%)	Sapling Ratio (%)
Damaye	August	90.33 a*	67.00 a*	67.00 a*	47.00 a*
	October	60.33 bc	17.33 c	17.33 c	11.00 c
	December	22.33 e	2.68 d	2.67 d	0.33 d
	February	44.00 d	5.68 c	5.67 c	2.33 d
NQ7	August	72.67 b	38.69 b	38.67 b	23.00 b
	October	55.00 cd	8.00 c	8.00 c	4.33 cd
	December	23.67 e	1.50 d	3.00 d	0.67 d
	February	57.00 cd	12.33 c	12.33 c	1.67 d

*There is no difference according to 1% between the averages in the same column and marked with the same letter.

Table 3. The variation of alive cuttings ratio (%), rooting rate (%), transplanted cuttings ratio (%) and sapling ratio (%) of goji berry cuttings according to cultivar and IBA concentration interaction

Cultivar	Cutting Time	Alive Ratio (%)	Cutting	Rooting Rate (%)	Transplanted cuttings ratio (%)	Sapling Ratio (%)
Damaye	0	52.67		13.67 b*	13.67 b*	7.00 b*
	500	49.67		25.33 ab	25.33 ab	14.67 ab
	1000	62.67		34.67 a	34.67 a	29.33 a
	2000	52.00		19.00 ab	19.00 ab	9.67 b
NQ7	0	52.67		9.83 ab	11.33 ab	4.33 b
	500	55.00		15.33 ab	15.33 ab	6.33 b
	1000	55.33		16.33 ab	16.33 ab	10.00 b
	2000	45.33		19.00 ab	19.00 ab	9.00 b

*There is no difference according to 1% between the averages in the same column and marked with the same letter.

Table 4. The variatoin of alive cuttings ratio (%), rooting rate (%), transplanted cuttings ratio (%) and sapling ratio (%) of goji berry cuttings according to cutting taking time and IBA concentration interaction

Cutting Time	IBA	Alive Ratio (%)	Cutting	Rooting Rate (%)	Transplanted cuttings ratio (%)	Sapling Ratio (%)
August	0	74.67 bc*		30.67 c*	30.67 c	16.67 cd*
	500	80.67 b		52.00 b	52.00 b	30.67 bc
	1000	90.67 a		70.67 a	70.67 a	59.33 a
	2000	80.00 b		58.00 ab	58.00 ab	33.33 b
October	0	48.00 de		4.00 efg	4.00 efg	2.67 ef
	500	54.67 d		15.33 cd	15.33 cd	8.00 de
	1000	73.33 bc		21.33 cd	21.33 cd	17.33 d
	2000	54.67 d		10.00 def	10.00 def	2.67 ef
December	0	28.00 ef		1.67 efg	4.67 fg	1.33 f
	500	26.67 f		4.00 efg	4.00 efg	0.67 f
	1000	28.00 ef		2.67 efg	2.67 efg	0.00 f
	2000	9.33 g		0.00 g	0.00 g	0.00 f
February	0	60.00 cd		10.67 def	10.67 def	2.00 ef
	500	47.33 de		10.00 de	10.00 de	2.67 ef
	1000	44.00 def		7.33 def	7.33 def	2.00 ef
	2000	50.67 d		8.00 def	8.00 def	1.33 f

*There is no difference according to 1% between the averages in the same column and marked with the same letter.

On the other hand, it was determined that only 23.00% of the cuttings taken in December could survive, 2.08% of them were rooted and only 1.17% of them turned into saplings (Figure 4). Shen & Chen (1990) found 84-96% rooting for auxin application compared with 0-5% for the control. When transplanted them into the open field, more than 85% of the rooted cuttings survived and became

established. Our survived transplants is lower than this results and this may effect by cultivar, cutting time and auxins. Jian-Feng (2010) also found that 750 mg/L of IBA was the best for goji berry survival rate.

It was determined that there is a statistically significantly difference between the IBA doses used in the experiment and applied to goji berry cuttings in order to promote rooting in terms of all the properties examined. Accordingly, 1000 ppm IBA application gave the highest results in terms of the ratio of surviving cuttings (59.00%), rooting and transplanted rooted cuttings ratio (25.50%) and sapling ratio (19.67%). The lowest values were determined at the rate of surviving cutting at 2000 ppm (48.67%) application, while rooting rate was 11.75% and seedling yield was 5.67% from control (without IBA) application (Figure 5). Shen and Chen (1990) stated that pre-planting treatment with IBA or NAA at 150, 250 or 500 p.p.m. on green-wood cuttings of goji berry, promoted rooting, the rooting percentage being 84-96% compared with 0-5% for the control. Our findings are lower than this result and this could be affected by the cultivar, cutting time and auxin doses.

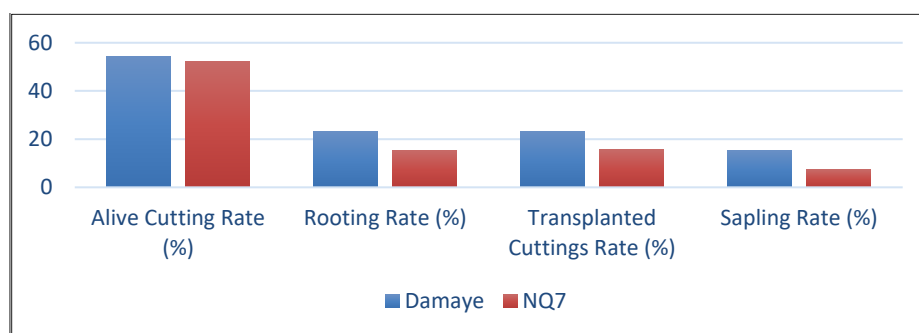


Figure 3. Variation in alive cutting, rooting, transplanted cuttings and sapling rate (%) in goji berry cuttings according to the varieties.

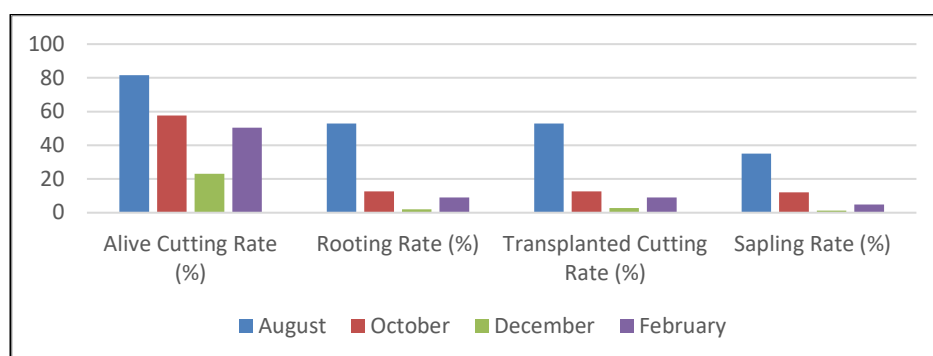


Figure 4. Variation in alive cutting, rooting, transplanted cuttings and sapling rate (%) in goji berry cuttings according to the cutting collecting time.

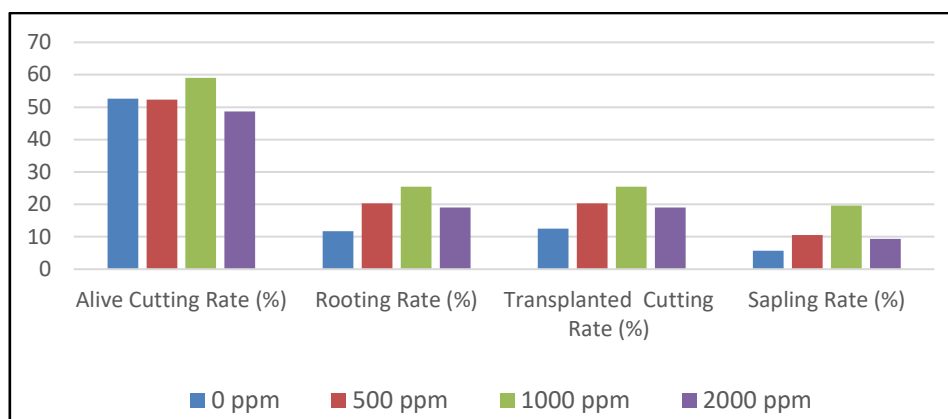


Figure 5. Variation in alive cutting, rooting, transplanted cuttings and sapling rate (%) in goji berry cuttings according to the IBA doses.

Although the propagation of goji berries by seed and tissue culture in *in-vitro* conditions is not practically preferred, the most preferred propagation method is reproduction by cutting. It is stated that fully green cuttings are not preferred for goji berries, which can be reproduced with semi hard-wood and/or hard-wood cuttings taken in summer or winter time. In addition, it has been determined that the application of auxin group growth regulators that increase rooting in cuttings also increases the rooting success (Feng et al., 2000, Celik et al., 2015; Asanica et al., 2016). In the present study, which investigated the effects of cutting taking time and IBA application on rooting in the reproduction of goji berries, 4 different doses of IBA (0, 500, 1000 and 2000 ppm), planted in perlite medium in bottom heated trays and they rooted under high tunnel conditions with misting. The highest results in terms of rooting rate of goji berry cuttings rooted under misting irrigation were obtained from cuttings (88.00%) with 1000 ppm IBA dose, which were taken from Damaye goji berry in August. While the best rooting result (67.00%) in terms of cultivar x cutting time interaction was obtained from the cuttings taking from the Damaye goji berry variety in August, the lowest rooting results (1.50%) were obtained from the cuttings obtained from the NQ7 variety in December (Table 1). According to these results, it is seen that the rooting rate can be very high when three factors in the experiment (Variety x Cuttings time x IBA dose) are taken into account. Considering only the cutting time, it was determined that the highest rooting rate was obtained from the cuttings taken in August with 52.83%, and when the rooting rate was evaluated only in terms of variety, Damaye variety had a higher rooting rate with 23.17% (Figures 3 and 4). According to Celik et al. (2015) semi hardwood cuttings taken in the end of the growing period, roots better than fully dormant cuttings. On the other hand, the cuttings that were taken from Damaye goji berry variety in October and the control group cuttings that did not apply IBA and the cuttings that were taken in December with the dose of 0 (control) or 2000 ppm IBA and the cuttings that were taken from the NQ7 variety in December and applied 1000 or 2000 ppm IBA dose could not be rooting obtained (Table 1). These findings are the same with Celik et al. (2015) results. Again, only 2.67% of the cuttings taken from Damaye variety in December could be transplanted and this value was recorded as the lowest level (Table 2). According to the literature, the rooting rate could be affected by cutting time (Celik et al., 2015), mother plant age and growing conditions (Celik and Celik, 2017), auxins rate and types (Hartmann et al., 2014; Beyl et al., 2015) and cutting growing environment (Asanica et al., 2016). At the end of six months after the transplanting process, it was determined that the rate of alive plants also varied according to the time of taking the cuttings, the IBA dose and the variety of the cuttings. It was determined that there were significant differences between the rate of transplanted rooted cuttings and the rate of alive saplings. Celik et al. (2015) also stated that cutting taking time and IBA doses could have positive affection on alive cuttings rate. Jian-Feng (2010) also found that IBA and the NAA treatments had the positive effects on the survival rate, height of seedlings, the average numbers and the average root length of goji berry. In the present study it has been determined that there are statistically significant differences between sapling rates in terms of variety x cutting time x IBA dose interaction. Cuttings from Damaye goji berry variety taken in August, and applied 1000 ppm IBA dose, reached the highest sapling rate as 82.67%. On the other hand, since there are no alive plants in many application groups and the seedling rate was recorded as 0.00% (Table 1). It is obvious that the goji berry cuttings

taken during active dormant period like winter time, they could not root well unless external auxin spraying (Celik et al., 2015). Markovic et al. (2018) also found that pH value of substrate and substrate type had positive affection on rooting performance. They stated that the rooting percentage was the highest (66%), and the length of primary roots, number and length of shoots were higher in sand compared to other mediums. According to Shen and Chen (1990), the season of cutting preparation had little effect on rooting. But we found cutting time is dramatically affected to the both rooting and transplanting ratio. Shen and Chen (1990) also pointed out that the daily mean temperature (20-30°C), a relative humidity (90-100%), a soil moisture content (<15%) and a 50% reduction in light transmission by shading in the plastic film-covered nursery provided the optimum conditions for rooting of goji berry cuttings. This means that rooting of goji berry cutting may affected to the soil and environmental conditions.

In the present study, when the variety and the cutting taking time were examined, cuttings taken from Damaye and in August reached the highest value with a sapling rate of 47.00% at the end of the research. However, the living plant ratio of cuttings taken from Damaye goji berry variety in December and rooting remained at the lowest level with 0.33% (Table 2). The number or ratio of rooted cuttings obtained after the cultivation of other higher plants such as ornamental plants with cuttings and which can be confused depends on the ambient temperature (Ball, 1998), rooting medium and auxin type and concentration (Alsup et al., 2004; Hartmann et al., 2014). Celik and Karasakal (2018), the highest living plant rate was obtained in July from the spreading mountain medlar cuttings planted in the peat environment without IBA and were obtained as 86.68%. They were also determined that the rate of living plants in the cuttings take in August and planted in perlite medium after 1000 ppm IBA application was at the lowest level with 23.33%. It is believed that the survival rate of the transplanted rooted cuttings can vary depending on the containers used, ambient conditions, transplanting time, irrigation, fertilization, light and temperature (Toogood, 1999; Hartman et al., 2014; Osburn et al., 2015) and cutting type (Toogood, 1999, Beyl et al., 2015, Osburn et al., 2015, Markovic et al., 2018). However, only when IBA doses are examined, it is seen that 1000 ppm IBA dose application reached the highest rooting rate (25.50%) (Figure 5). Studies show that the rate of rooting in cuttings may vary depending on the time the cuttings are taken, the IBA dose applied and rooting environments (Hartmann et al., 2014). As a matter of fact, Celik and Celik (2017) applied different doses of IBA to the autumn olive berry cuttings they bought at different times and achieved 97.33% rooting success by applying 500 or 1000 ppm IBA to the leafy semi-hardwood cuttings taken on May 15 or July 15. This shows that rooting is affected by many factors such as cutting taking time, cutting type and auxin dose. The obtained results showed significant affection on rooting of goji berry with cuttings taking during different periods and spraying auxins. As Feng et al. (2000) found that greenwood, cuttings, i.e. tender shoots with green leaves, were not suitable for cutting propagation of *Lycium chinense*. Lignified or semi-lignified hardwood cuttings, treated with NAA or IBA at 200 mg/kg for 0.5~1.0 h., or with H 3BO 3 at 500 mg/kg for 0.5 h., rooted readily. The auxin treatments increased rooting rate and root number, but decreased root length. Qiong (2011) also stated that the use of plant growth regulators (PGRs) is necessary for successful propagation of this plant. Asanica et al. (2016) obtained 60% rooted goji cuttings (0.4 - 0.8 cm diameter) in a control treatment in a peat and sand (1: 1) mixture, 50% rooted cuttings after treatment with 1500 ppm IBA, and only 40% rooted after treatment with 500 ppm IBA. However, their results with thinner cuttings (0.1 - 0.3 cm) were significantly different, reaching 90% rooting of cuttings treated with 500 ppm IBA, rooted in a same substrate mixture. Gehlot et al. (2015) showed that success of hardwood cuttings rooting depends of several factors and their interactions, including cuttings diameter, PGRs type and concentration and a rooting medium. Genotype is also important factor, and each clone could have a different response to a treatment, and the rooting rate can vary from 30% to 100% depending on genotype (Asanica et al., 2016). Zong-Cai et al. (2012) used IAA and ABT plant growth regulators and their 4 concentrations for hardwood cuttings of Ningqi-1 goji berry. They proved that the survival rate of hardwood cuttings were developed and the growth of the roots, stems and leaves of cutting seedlings were promoted best when the hardwood cuttings of Ningqi-1 *Licium barbarum* L.were soaked in IAA or ABT with 100 mg/L.

Goji berry is a deciduous shrub that has been used for centuries in China as a traditional medicinal and food supplement. Today, it is widely grown as a fruit as well as a landscape ornamental species, including some ornamental varieties. It is easily grown plant, suitable for hedges, and it endures pruning. Goji has well developed root system and it can be planted for erosion control or to stabilize

sandy soils. It can be propagated by seed, cuttings, layering and division. Propagation by cuttings is the most convenient method for mass production of uniform plants. In vegetative propagation of horticultural plants, rooting rate, root quality, sprout and shoot quality, as well as the ratio of plants that can survive and turn into seedlings that can survive by reaching the appropriate quality after being transplanted to the pots, and which can be put up for sale, is also very significant. Therefore, the rate of plants that were transplanted to the pots and the rate of sapling rate at the end of the research, after six-seven months, were also calculated.

4. Conclusion

In conclusion, the increasing interest of consumers for goji fruits and plants and the opportunity seized for growers to deliver valuable and profitable products on the local market raise the need of producing new plants of *Lycium* sp. In this respect, the present work reveals some particularities in semihardwood and hardwood cuttings propagation for two goji berry cultivars. In the experiment, 88.00% rooting and 82.67% sapling rate were obtained in cuttings taken from Damaye goji berry variety in August and applied 1000 ppm IBA dose. December cuttings for both cultivars were not profitable. It was found that auxin (IBA) application generally increased the number of both rooting, alive cutting rate and sampling rate. We know goji berry is a promising medicinal and aromatic plant for the agriculture of our country. It is extremely important that goji berries are promoted to the farmers of our country, encouraged by the Ministry of Agriculture and Forestry, evaluated in terms of the added value it will provide to our economy. For this reason, it will be possible to propagate good types or varieties vegetatively by using the results of this study on the reproduction of goji berries.

5. Acknowledgement

We would like to thank to the owner of HZR Fidan, Tarım A.Ş., Mr. Mehmet CEKIL, who presented the goji berry garden to us, provided the trial materials and established the rooting environment by setting up the high tunnel and bottom heated trays, pans, and rooting medium.

References

- Alsop, C. M., Cole, J. C. & Claypool, P.L. (2004). Stem cuttings from caddo sugar maple trees differ in their rooting potential. *Acta Horticulturae*. 630, 263-269.
- Amagase, H. A. & Farnsworth, N.R. (2011). A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Research International* 44(7), 1702-1717.
- Anonymous. (2015). Goji berry nasıl yetiştirilir. <http://gojiberryorganik.com/index.php?s=icerik&id=26> (Date of Access: 02.09.2019)
- Asanica, A., Tudor, V., Teodorescu, R.I., Iacob, A., Zolotoi, V. & Tudor, A.D. (2016). Results on hardwood cuttings propagation of some *Lycium* sp. genotypes. *Fruit Growing Research*, 32: 63-70.
- Ball, V. & Zylstra, A. (1998). More Efficient Greenhouse Heating. In V. Ball (Eds.) *Ball RedBook*, (pp. 35-54). Ball Publishing, Batavia, Illinois, USA.
- Beyl, C.A., Burger, D.W. & Cheng Z. M. (2015). Plant Growth Substances Used in Propagation. In C.A. Beyl & R.N. Trigiano (Eds.), *Introduction to Plant Propagation and Laboratory Exercises*, (pp. 47-63). CRC Press, Taylor & Francis.
- Bryan, J. K., Costa, D., Giese, N., Nummy, K., Rapp, C. & Seamon, E. (2008). Goji (*Lycium spp*) in natural standardmonograph. *Natural Standard*. USA
- Celik, H. & Celik, D. (2017). Güzyemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Celiklerinde köklenme üzerine Celik alma zamanı ve IBA dozlarının etkisi. *BAHÇE 46 (Özel Sayı 1)*, 155-162.
- Celik, H. & Karasakal, Ö. (2018). *Yayılcı dağ muşmulası'nın (Cotoneaster horizontalis dnce.) tohum ve Celikle çoğaltılması*. OMÜ Fen Bil. Enst. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- Celik, H. & Yayla Cetin F. (2017). Süper meyve gojiberry (kurt üzümü). *Köyüm Bitkisel Üretim ve Hayvancılık Dergisi*. 2(20), 76-80

- Celik, H., İslam, A. & Kalkışım, Ö. (2015). Effect of cutting time and IBA application on rooting of edible cherry laurel (*Prunus laurocerasus* cv. 'Kiraz') cuttings. *Anadolu Journal of Agricultural Sciences*, 30(3), 215-220.
- Demchak, K. (2014). Goji Berry Culture. *New York Berry News*, 12(9), 27-28
- Fadıloğlu, E.E. & Çoban, M.Z. (2019). The Effects of Goji Berry (*Lycium barbarum* L.) Extract on Some Chemical, Microbiological and Sensory Characteristics of Liquid Smoked Common Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) Sausages. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science* 29(4),702-710.
- Feng, F., HongBo L. & JianYing X. (2000). Propagation of Chinese wolf-berry (*Lycium chinense*) by cuttings. *Journal of Southwest Agricultural University*, 22(3), 251-253.
- Gehlot, A., Tripathi A., Arya, I. & Arya S. (2015). Influence of cutting diameter, auxin and rooting substrate on adventitious rooting from hardwood cuttings of *Azadirachta indica* A. Juss (*Neem*). 2(3), 49-61.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. & Geneva, R.T. (2014). *Plant Propagation. Principles and Practices*. Pearson New Int. Ed. England, Eight Ed., USA.
- Jian-Feng, W. (2010). Effects of different concentrations IBA and NAA on tender branch cottage of *Lycium barbarum* L. en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HBLY201003008.htm Date of Access: 05.09.2019.
- Levin, R. A. & Miller, S. A. (2005). Relationships within tribe *Lycieae* (*Solanaceae*): paraphyly of *Lycium* and multiple origins of gender dimorphism. *American Journal of Botany* 92(12): 2044-2053.
- Lonnee, D., Rose, D., Selinger, D. & Whitman, J. (2011). *Growing Shrubs and Small Trees in Cold Climates*. Univ. Of Minnesota Press., USA.
- Markovic, M., Grbic, M., Skocajic, D., Djukic, M. & Bojovic, D.D. (2018). The influence of the substrate composition on rooting of hardwood cuttings of *Lycium barbarum* L. IX International Agricultural Symposium, Proceeding Book, 343-347.
- Osburn, L.D., Cheng, Z.M. & Trigiano, R. (2015). Adventitious Rooting of Woody and Herbaceous Plants. In C.A. Beyl & R.N. Trigiano (Eds.), *Plant Propagation Concepts and Laboratory Exercises* (pp: 231-240), CRC Press, Taylor & Francis.
- Potterat, O. (2010). Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. *Planta Med*, 76, 7-19.
- Qiong D. (2011). Effects on plant growth regulator on survival rate and growth of wolfberry cuttings. en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-QHXZ201103019.htm. Date of Access: 07.09.2019.
- SPSS, (2017). IBM SPSS Statistics 25.0 for Windows. Armonk, NY.
- Toogood, A. (1999). *Plant Propagation*. The American Horticultural Society, DK Publishing, New York. USA.
- Wang, Y., Chen, H., Wu, M., Zeng, S., Liu, Y. & Dong, J. (2015). Chemical and genetic diversity of wolfberry. In: R.C.C Chang & K.F. So (Eds.), *Lycium barbarum and Human Health* (pp. 1-27), Springer Press.
- Wei, Y.Q., Xu, X., Tao, H. & Wang, P. (2006). Growth performance and physiological response in the halophyte *Lycium barbarum* grown at salt-affected soil. *Annals of Applied Biology*, 149, 263–269.
- Yılmaz, G. & Kınay, A. (2016). Goji beri (*Lycium barbarum* L.) fidesi üretimine farklı ortamların etkileri. *GOP Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(1), 111-115.
- Yılmaz, G. & Yıldız, K. (2020). Bazı önemli dış mekan süs bitkilerine ait yeşil çeliklerin köklenme performansı. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(2), 373-380
- Zong-Cai XU., Ming-ceng MA., Feng T., Feng C. & Feng T. (2012). Effects of plant growth regulators on wolfberry hardwood cuttings root and growth. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-FJLK201203025.htm. Date of Access: 02.09.2019.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)

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



Araştırma Makalesi (Research Article)

Ege Bölgesi Bağ Alanlarından Elde Edilen *Phomopsis viticola* İzolatlarının Morfolojik Moleküler ve Patojenik Karakterizasyonu**

Sahra HOSSEINALIZADEH¹, Ömer ERİNCİK², Serap AÇIKGÖZ³

^{1,2,3}Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-7491-242X> ²<https://orcid.org/0000-0002-0304-7475> ³<https://orcid.org/0000-0002-7970-1648>

*Sorumlu yazar e-posta: sahraalizadeh88@yahoo.com

Makale Bilgileri

Geliş: 05.08.2020

Kabul: 18.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.777108

Anahtar kelimeler

Asma,

Ölököl

Phomopsis viticola,

Öz: *Phomopsis viticola*'nın neden olduğu *Phomopsis* sürgün ve yaprak lekesi (Ölököl) dünyada birçok bağ alanında olduğu gibi Türkiye'nin Ege Bölgesinde de sorun olan önemli bir hastalıktır. Bu çalışmada, Ege Bölgesinde bağ alanlarından elde edilen *P. viticola* izolatlarının morfolojik moleküler ve patojenik karakterizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla, Ege Bölgesi bağ alanlarından 416 sürgün örneği toplanmış ve toplamda 232 *Phomopsis* spp. izolatu izole edilmiştir. İzolatların büyük çoğunluğunda (% 94.39) sadece alfa konidi görülmüşken sadece 13 izolatta alfa ve beta sporları görülmüştür. Fungal izolatların çoğunluğu (% 69.39) hızlı koloni gelişimi göstermişken sınırlı sayıda izolatta (15 adet) yavaş koloni gelişimi gözlemlenmiştir. Fungal izolatların koloni rengi değerlendirmelerinde ise izolatların % 35.77'si beyaz, % 59.05'si gri ve % 5.17 açık krem renkte koloni oluşturmuştur. *P. viticola*'nın moleküler tanımlanması için PCR analizleri yapılmış ve 214 *P. viticola* izolatın tanısı gerçekleştirilmiştir. Morfolojik olarak PCR negatif ve PCR pozitif izolatların arasında büyük farklılıklara rastlanmamıştır. Bu nedenle *P. viticola*'nın doğru tanımlanması için morfolojik tanının yanında moleküler tanının da kullanılması gerekmektedir. Bu çalışmada Ege Bölgesinde bağ alanlarında Ölököl belirtilerini gösteren bitkilerden elde edilen izolatların büyük bir çoğunluğunun (% 92.24) *P. viticola* olduğu ortaya konmuştur. Patojenisite testinde izolatların farklı virülenslik düzeylerine sahip oldukları (2.3-18.7 cm lezyon uzunlukları) görülmüş ancak izolatların morfolojik özellikleri ile virülenslik dereceleri arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Morphologic, Molecular and Pathogenic Characterization of *Phomopsis viticola* isolates Collected from the Vineyards of the Aegean Region in Turkey

Article Info

Received: 05.08.2020

Accepted: 18.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.777108

Keywords

Grapevine,

Dead arm

Phomopsis viticola,

Abstract: *Phomopsis* cane and leaf spot caused by *Phomopsis viticola* (dead arm) is an important problem in the vineyards of the Aegean Region of Turkey, like in many parts of the world. In this study, morphological molecular and pathogenic characteristics of *P. viticola* isolates collected from the vineyards of the Aegean Region were determined. For this purpose, 416 shoot samples were collected and a total of 232 *Phomopsis* spp isolates were isolated. In the majority of isolates (94.39%), only alpha conidia were observed, while alpha and beta conidia occurred in only 13 isolates. While most of the isolates (69.39%) showed rapid colony growth, a limited number of isolates (15 isolates) produced slow growing colony. In the fungal colony colour characteristics, 35.77% of the isolates were white, 59.05% were gray and 5.17% were light cream. In the PCR

assay, 214 isolates were identified as *P. viticola*. No important differences were found between PCR negative and PCR positive isolates morphologically. Therefore, molecular diagnosis must be made in order to correctly identify *P. viticola*. This study indicated that most of the isolates (92.24%) obtained from the plants showing Phomopsis cane and leaf spot symptoms in vineyards of the Aegean Region are *P. viticola*. There were different levels of virulence with the lesion length ranging between 2.3 and 18.7 cm among the isolates tested in pathogenicity test; however, no relationships were observed between any of the morphological and virulence level.

**Çalışma birinci yazarın doktora tezinden üretilmiştir.

1. Giriş

Türkiye; toplam 448 bin hektar bağ alanı ile İspanya, Çin, Fransa ve İtalya'dan sonra 5. sırada yer almaktadır (FAO, 2018). Türkiye'nin bağ alanlarının % 32.5 gibi büyük bir kısmı Ege Bölgesinde bulunmaktadır (Anonim, 2019a). Ülkemiz için önemli olan bağcılık günümüzde üretimden pazarlamaya kadar geçen süreçte birçok sorunla karşılaşmaktadır. Bu sorunlardan biri de fungal etmenlerin neden olduğu hastalıklardır (Poyraz ve Onoğur, 2011). Bu hastalıklardan birisi dünyada Phomopsis Sürgün ve Yaprak Leke Hastalığı olarak bilinen *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc.'nın neden olduğu Ölükol hastalığıdır (Nita ve ark., 2006). Hastalık ilk olarak ilkbaharda yapraklarda küçük sarı klorotik lekeler şeklinde ortaya çıkmakta, ilerleyen dönemlerde ise sürgünlerin dip kısımlarında koyu renkli lekeler ve odun dokusuna kadar ulaşan çatlaklar oluşturmaktadır (Mostert, 2000). Ölükol Hastalığı ile enfekte olan asmalarda genel olarak yaprak, sürgün hatta salkım kurumaları nedeniyle % 10 civarında verim kaybı meydana gelmekte ve ertesi yıl gözlerinin ölmesi ile de daha yüksek oranlarda verim kayıpları oluşabilmektedir (Anonim, 2019b).

Ülkemizde ilk olarak Karaca ve Eroğlu (1967), tarafından 1967 yılında Marmara ve Ege Bölgelerinde rapor edilmiş bu hastalık, o dönemde dünyada kabul gören ismi olan Ölükol (Dead-Arm) ile adlandırılmıştır. Daha sonraki yıllarda dünyada hastalığın ismi Phomopsis Sürgün ve Yaprak Leke hastalığı olarak değiştirilse de Türkiye'de Ölükol isminin kullanımına devam edilmiştir. Hastalığın etmeni doğada anamorf formda bulunan fungal patojen *P. viticola* olarak bildirilmiştir. Gerek *Phomopsis* cinsinde yer alan patojenlerin karmaşık konukçu dizileri gerekse de DNA dizilim analizleri sonucunda etmenin birden fazla teleomorf *Diaporthe* türü ile ilişkilendirilmiş olması nedeniyle hastalığın etmeni olarak anamorf *P. viticola*'nın kullanımı yaygınlıkla devam etmektedir (Niekerk ve ark., 2005).

Ülkemizde Ege ve Marmara bölgeleri bağ alanlarında Phomopsis sürgün ve yaprak leke belirtilerini gösteren asmalardan sıklıkla *P. viticola*'nın izole edildiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Çetinkaya ve Onoğur, 2006; Yıldırım, 2014; Awan, 2017; Güngör Savaş, 2019). Bunun dışında Ankara ili bağ alanlarında Ölükol Hastalığının belirtilerini sergileyen asma örnekleri üzerinde morfolojik tanı esas alınarak *P. viticola*'nın varlığı bildirilmiştir (Özben, 2011). Ege Bölgesinde sınırlı sayıda alandan asma sürgün örneklerinden toplanan 23 fungal izolatın morfolojik karakterizasyonunun yanısıra ve DNA dizilimi ile moleküler olarak tanısı yapılmış ve tüm izolatlar *P. viticola* (*Diaporthe ampelina*) olarak tanımlanmıştır (Awan, 2017). Manisa ve Tekirdağ illerinden *P. viticola* etmenini morfolojik yapılarına bakılarak ve Real Time (RT)-PCR'dan elde edilen PCR ürünlerin DNA dizilimi çıkartılarak *P. viticola*'nın tanısı yapılmıştır (Güngör Savaş, 2019). Hosseinalizadeh ve ark. (2020), Ege Bölgesinin İzmir ve Manisa illerinden *P. viticola* belirtilerini sergileyen asmalardan morfolojik özelliklerine bakılarak toplam 80 izolatta *P. viticola* etmenini tespit etmişlerdir. Ancak son yıllarda asmada diğer *Phomopsis* türlerinin yanısıra odun dokusunda farklı patojenlerin de varlığı bildirilmeye başlanmış olup bu patojenlerin birbirlerine benzer şekilde belirtiler meydana getirebildikleri ve hatta birlikte karışık enfeksiyonların ise hastalıkların tanısını daha karmaşık hale getirdiği belirtilmektedir (Merrin ve ark., 1995; Mostert ve ark., 2001; Niekerk ve ark., 2005; Udayanga ve ark., 2011; Schilder, 2005; Güngör Savaş, 2019). Böyle durumlarda etmenlerin hızlı ve güvenilir tanısı ön plana çıkmaktadır. Morfolojik tanının bazı durumlarda etmenlerin teşhisinde tek başına yeterli olmaması, araştırmacıları moleküler düzeyde tanıya yönlendirmiştir. Nitekim son zamanlarda geliştirilmiş ticari bir kit (*Phomopsis viticola* End-Point PCR Kit-NORGEN, BIOTEK CORPORATION/ Canada) ile *P. viticola*'nın PCR ile tanısı yapılabilir hale gelmiştir. Ege Bölgesi bağ alanlarında Ölükol çalışmalarına

bakıldığında genelde İzmir ve Manisa illerinden toplanan sınırlı sayıda örnekler üzerinde çalışmalar yapıldığı görülmektedir.

Bu çalışmada Ege Bölgesinde önemli bağ üreticisi illeri olan Aydın, Denizli, Manisa ve İzmir'de Ölükol belirtisi gösteren bitki örnekleri *P. viticola* yönünden incelenmiştir. Bitki örneklerinden elde edilen izolatların önce morfolojik karakterizasyonu yapılmış ardından *P. viticola*'ya özgü ticari bir tanı kiti ile PCR da moleküler tanıları gerçekleştirilmiştir. Bunun dışında, seçilmiş bazı *P. viticola* izolatlarının sürgün testi ile virülenslik belirlenme çalışmaları yürütülmüştür.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Hastalıklı bitkilerin toplanması

Ege Bölgesinin asma üretimi yapılan Denizli (Çal, Buldan ve Güney), İzmir (Menemen, Kemalpaşa ve Bayındır), Manisa (Alaşehir, Salihli ve Saruhanlı) ve Aydın (Koçarlı, Nazilli ve Kuşadası) illerinden Ölükol Hastalık etmeni *P. viticola* izolatlarının elde edilmesi için 2018 yılının üretim sezonu içerisinde sörvey çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sırasında omcaların sürgünlerinde siyah lekeler, çatlamış kabuk dokuları ve yapraklarda sarı küçük lokal lekeler gibi, Ölükol Hastalığı belirtileri gösteren bitkilerin sürgünlerinin dip kısımlarından 5-10 cm uzunluğunda olacak şekilde toplam 416 adet sürgün örneği alınmıştır (Çizelge 1).

2.2. Sürgün örneklerinin izolasyonu ve saflaştırması

Laboratuvara getirilen sürgün örneklerinin Ölükol Hastalığı belirtisi gösteren kısımlarından steril bistüri yardımıyla hasta ve sağlıklı dokuyu içerecek 5x6 mm boyutlarında parçalar kesilmiş ve %2'lik NaOCl içinde 2 dakika süre ile bekletilerek yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Steril saf suda 2 kez durulanıp takiben steril filtre kağıtları arasında kurutulan örnekler petri kaplarında bulunan patates dekstroz agar (PDA, Difco™ Becton Dichson, USA) üzerine yerleştirilerek karanlık koşullarda 24°C de inkübe edilmişlerdir. Yaklaşık bir haftalık inkübasyonun ardından gelişen koloniler makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiş ve *P. viticola* olduğu düşünülen kolonilerin kenarındaki misel uçlarından alınan parçalar tekrar PDA besi yerine alınarak saf kültürler elde edilmiştir.

2.3. Fungal izolatların kültürel özelliklerinin değerlendirilmesi

Saflaştırılan tüm izolatlar PDA besi ortamında geliştirilerek kültürel özellikleri yönünden incelenmişlerdir (Schilder ve ark., 2005). Bunun için; PDA üzerinde aktif olarak gelişen her bir izolata ait kolonilerin kenar kısımlarından alınan 4 mm çapındaki diskler, içinde PDA bulunan 9 cm'lik Petri kabının orta kısmına yerleştirilmiş ve izolatlar inkübatörde 24°C de 7 gün karanlık koşulları takiben 7 gün aydınlık ortamda inkübasyona bırakılmışlardır. Her bir Petri bir tekerrür olarak değerlendirerek çalışma üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

2.3.1. Koloni gelişme hızları ve piknit oluşumu

İnkübasyonun 14. gününde toplam 232 adet izolatın koloni gelişme hızları koloni çapları birbirini dik kesen iki noktadan cetvelle ölçülerek belirlenmiştir. Her bir izolat için koloni çapı ortalaması hesaplanmış ve bu değerlere göre izolatlar gruplandırılmıştır. Gelişim hızı yönünden; yavaş (Grup I), orta (Grup II), ve yüksek (Grup III) olacak şekilde üç grup, çalışmada elde edilen en büyük koloni ile en küçük koloni farkının üç eşit aralığa bölünmesi ile oluşturulmuştur (Erincik ve ark., 2018). İzolatların piknit oluşumu ise inkübasyonun 4. haftasında değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde her bir Petri kabının tesadüfi olarak seçilen yaklaşık 1 cm²'lik dört farklı alanında piknit yoğunluğu belirlenmiştir. Koloni üzerinde ölçüm yapılacak alan 4 mm çapında bir mantar delici ile kesilerek işaretlenmiştir. Stereomikroskop altında kesili alanda 0-4 (0: piknit yok, 1: piknit sayısı 1-25, 2: piknit sayısı 26-50, 3: piknit sayısı 50-100 ve 4: piknit sayısı >100) skala kullanılarak piknit sayısı tahmin edilmiştir.

2.3.2 Koloni renkleri ve spor oluşumları

İzolatların 14. gününde koloniler renk tipleri (W, beyaz renkli koloni, G, gri renkli koloni ve kahve renkli koloni) yönünden değerlendirilmiştir. İnkübasyonun dördüncü haftasında 3 tekerrüründen tesadüf olarak bir Petri kabı seçilmiş ve tüm izolatlarda 25 adet alfa (α) konidi, bulunması durumunda ise 25 adet beta (β) konidi'nin boyutları mikroskop (Leica DFC320) altında Labsens bilgisayar programı kullanılarak ölçülmüştür (Uecker, 1998; Kanematsu ve ark., 2000).

2.4. Fungal izolatlarının PCR da moleküler tanınması

DNA izolasyon için kullanılacak izolatlara ait miseller, PDA ortamı üzerine konulan steril sefyon diskler üzerinde yerleştirilmiş ve inkübatörde 24°C'de karanlık koşullarda 6-7 gün inkübasyonun bırakılmıştır. Sefyon disklerde gelişen kolonilerden, yaklaşık 3x3 cm boyutlarında misel kitlesi steril kürdan ile alınarak 1.5 ml santrifüj tüplere yerleştirilmiş ve ardından DNA ekstraksiyonu Erincik ve ark, (2011)' e göre yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar agarose jelde DNA'nın varlığına bakılmıştır ve DNA'lar PCR da kullanılmak üzere -20 °C de saklanmıştır.

Elde edilen DNA'ların PCR için *Phomopsis viticola* End-Point PCR Kiti kullanılmıştır. Kit protokolüne göre; 10 µL MDx 2X PCR Master Mix, 2 µL *P. viticola* Primer Mix, 2.5 µl örnek DNA ve 5.5 µl steril saf ile toplam 20 µl'ye tamamlanmıştır. Thermal cyclus içerisinde 40 döngü olarak planlanan PCR da ilk denatürasyon 94° C de 3 dakika olarak başlanmış ve 94°C de 15 saniye denatürasyon, 60°C de 30 saniye annealing, 72° C de 45 saniye extension ve 72°C de 5 dakika final extension şeklinde uygulanmıştır. PCR ürünleri 150V, 30 dakika % 1.4 lik agaroz jel elektroforezde ayrıştırılacak ve görüntülenmiştir. Moleküler ağırlık olarak 2000 bp DNA marker kullanılmış ve *P. viticola*' nın tanısı 300 bp ağırlıklar esas alınarak yapılmıştır. Ayrıca kitin içerisinde bulunan *P. viticola* negatif ve pozitif örnekler PCR da kullanılmıştır (*Phomopsis viticola* End-Point PCR Kit, NORGEN, BIOTEK CORPORATION, Canada).

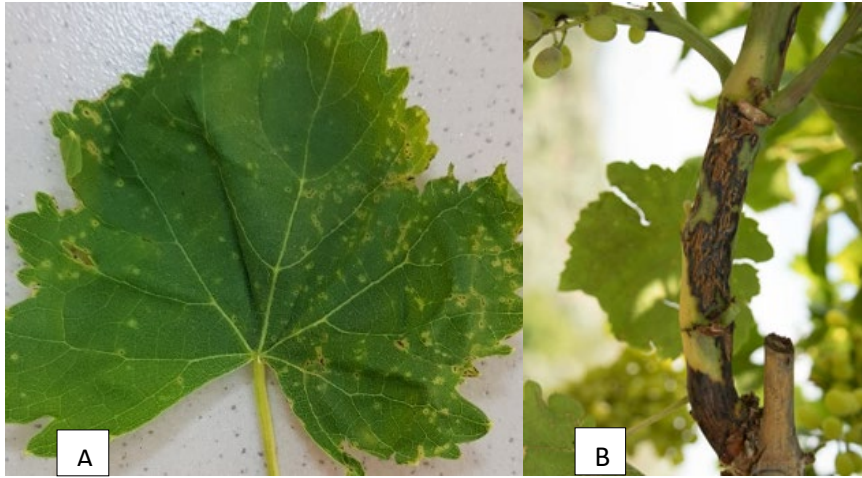
2.5. Fungal izolatların virülenslik testi

PCR testi ile *P. viticola* olduğu teyit edilmiş izolatlar arasından, kültürel özellikleri göz önünde bulundurularak tüm illeri temsil edecek şekilde toplam 49 adet izolat virülenslik testi için seçilmiştir. Virülenslik testi, sultani çekirdeksiz asmalardan alınan 1-2 cm çapında ve yaklaşık 30 cm boyundaki homojen görümlü yeşil asma sürgünleri üzerinde Rawnsley (2002)'e göre yapılmıştır. Test için öncelikle sürgünler musluk suyuyla yıkanıp kurulandıktan sonra % 2'lik sodyum hipoklorit içerisinde 2 dakika bekletilerek yüzeysel olarak sterilize edilmiş ve steril su ile durulanıp, steril koşullarda kurumaları sağlanmıştır. Daha sonra her bir dal parçasının üst uç kısmı eriyik haldeki parafine daldırılarak yara bölgesinin kapanması sağlanmış ve sürgünlerin uç kısmın 10 cm altından 4 mm çapındaki mantar delici ile birer disk çıkartılarak yara açılmış, ardından PDA üzerinde geliştirilen izolatların kolonilerinin genç kısımlarından alınan aynı çaptaki miselyal diskler yaranın içine gelecek şekilde yerleştirilerek inokulasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Miselyal diskin kurummasını engellemek için inokulasyon yerleri parafilm ile sarılmıştır. Kontrol için kullanılan sürgünlerde sadece steril PDA diski konulmuştur. Dallar dik bir şekilde, içerisinde nemli steril perlit bulunan saksılara çelik köklendirme yöntemine benzer şekilde daldırılmış iklim odasında 25 °C sıcaklıkta 30 gün süre ile karanlıkta inkübe edilmişlerdir. Her tekerrürde tek dal olacak şekilde deneme dört tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İnokulasyondan 1 ay sonra sürgünler üzerinde oluşan lezyonlar uzunlamasına bir uçtan diğer uca ölçülmüştür. Elde edilen değerden yara alanının uzunluğu çıkarılarak gerçek lezyon uzunluğu elde edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi ile (*p* değeri <0,05) SPSS 18.0 program paketinde yapılmış ve izolatlar arasındaki virülenslik farklılıkları Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

3. Bulgular

3.1. Örneklem ve izolasyon

Ege Bölgesinin Denizli (Çal, Buldan ve Güney), İzmir (Menemen, Kemalpaşa ve Bayındır), Manisa (Alaşehir, Salihli ve Saruhanlı) ve Aydın (Koçarlı, Nazili ve Kuşadası) illerinin bağ alanlarında Ölükol Hastalığının belirtileri olan asma sürgün diplerinde siyah lekeler ile çatlamış kabuk dokuları ve yapraklarda sarı küçük lokal lekelerle sıklıkla gözlemlenmiştir (Şekil 1). Örneklem çalışmaları yapılan tüm il ve ilçelerde ölü kol hastalığı belirtisi gösteren asmalara rastlanmıştır ve toplamda 416 adet sürgün örneği alınmıştır. Laboratuvara getirilen örneklerden PDA besi ortamında patojenin izolasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. İzolasyon Petrilerinde görsel olarak belirgin hale gelen miselyal koloniler makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiş ve sonuçta Aydın'dan 53, Denizli'den 50, Manisa'dan 59 ve İzmir'den 70 olmak üzere *P. viticola* olduğu düşünülen toplam 232 adet izolat saflaştırılmıştır (Çizelge 1).



Şekil 1. Sörveylerde örneklem yapılan bitkilerde Ölü kol belirtileri: Asma yapraklarda sarı klorotik lekeler (A) ve sürgünlerde siyah lezyonlar (B).

Çizelge 1. Ölükol belirtisi gösteren bitkilerden alınan örnek sayıları ve izole edilen *Phomopsis* spp. izolat sayılarının Ege Bölgesi il ve ilçelerine göre dağılımı

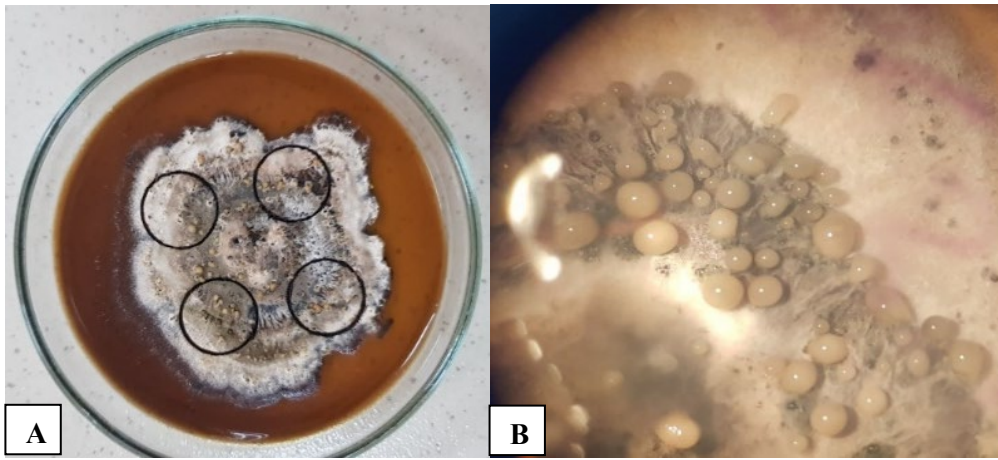
İller	İlçeler	Örnek sayıları	İzolat sayıları
Aydın	Nazili	32	18
	Koçarlı	11	8
	Söke	5	4
	Kuşadası	42	23
	Ara Toplam		90
Denizli	Çal	20	17
	Güney	9	6
	Buldan	33	27
Ara Toplam		62	50
Manisa	Salihli	43	24
	Alaşehir	24	13
	Saruhanlı	34	22
Ara Toplam		99	59
İzmir	Selçuk	30	15
	Bayındır	53	25
	Efem çukur	4	3
	Urla	8	3
	Menemen	49	15
Kemal paşa	21	9	
Ara Toplam		165	70
Genel Toplam		416	232

3.2. Fungal izolatların tanılanması ve kültürel özellikleri

3.2.1. Koloni gelişme hızları ve piknit oluşumu

İzolatlar, PDA ortamında 24°C'de 14 günlük inkübasyon sonrasında farklı miselyal koloni gelişimleri göstermişlerdir. Toplam 15 izolat 2.28-3.85 cm ortalama miselyal çapı ile yavaş gelişen Grup 1'de yer almıştır. Ortalama miselyal koloni çapı 3.86-5.43 cm olan 56 izolat orta hızda gelişen Grup 2'de yer almıştır. Geri kalan 161 izolat 5.44-7 cm ortalama miselyal koloni çapı ile hızlı gelişen Grup 3'de yer almıştır (Çizelge 2). Tüm illerde orta ve hızlı gelişen izolatlarla rastlanırken Denizli ilinden yavaş gelişen izolatlarla rastlanmamıştır.

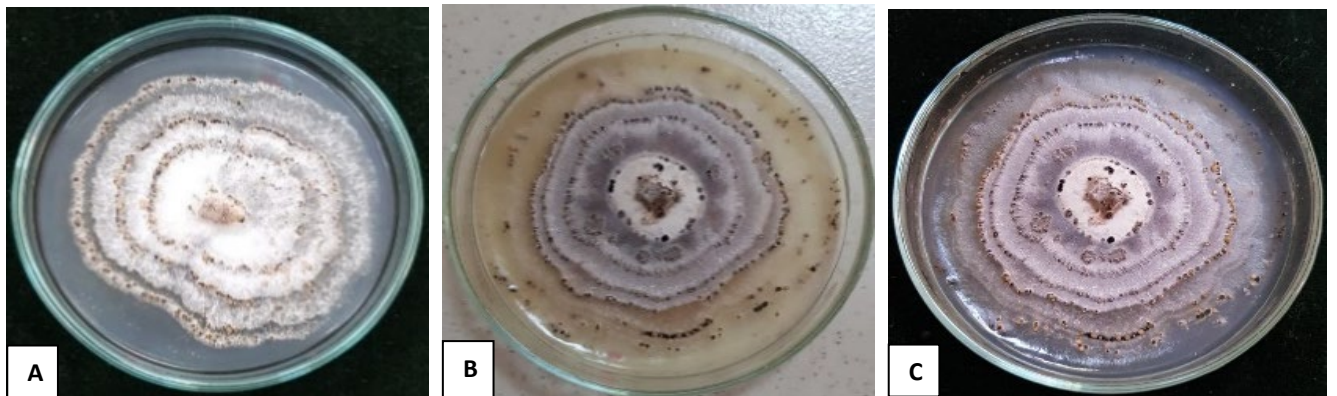
İnkübasyonun 4. haftasında izolatlarla ait piknit sayısı ortalama skala değerlerine göre, 5 izolatta piknit oluşumu gözlenmemiştir. Beş izolat "1" skala değerini alarak düşük sayıda piknit (1-25/cm²) oluşturmuştur. Kalan izolatlardan, 31'i "2" skala değerini alarak orta düşük sayıda piknit (26-50/cm²), 151'i "3" skala değerini alarak orta yüksek sayıda piknit (50-100/cm²) ve 40'ı "4" skala değerini alarak yüksek sayıda piknit (>100) oluşturduğu saptanmıştır (Şekil 2 ve Çizelge 2).



Şekil 2. İnkübasyonun 4. haftasında piknit yoğunluğu belirlemede sayım yapılan alanlar (A) ve stereomikroskop altında piknit görünümü (B).

2.3.4 Koloni renkleri ve spor oluşumları

PDA'da 24°C 14 günlük inkübasyonun ardından, izolatlar koloni renkleri yönünden beyaz, gri ve açık krem olmak üzere 3 farklı gruba ayrılmışlardır. Toplam 137 izolat gri, 83 izolat beyaz ve 12 izolat açık krem koloniler oluşturmuştur (Şekil 3). Beyaz ve gri renkli izolatlarla tüm illerde rastlanırken Manisa'da krem renkli izolata rastlanmamıştır. (Çizelge 2).



Şekil 3. İnkübasyonun 14. gününde beyaz (A), gri (B), açık krem (C) renkte oluşan *Phomopsis* spp. Kolonileri.

Çizelge 2. Ege Bölgesin’den elde edilen *Phomopsis* spp. izolatlarının patates dekstroz agar besi ortamında 14 günlük miselyal koloni çapları, koloni renkleri ve inkübasyonun 4. haftasında piknit oluşumuna göre iller bazında sayısal dağılımları

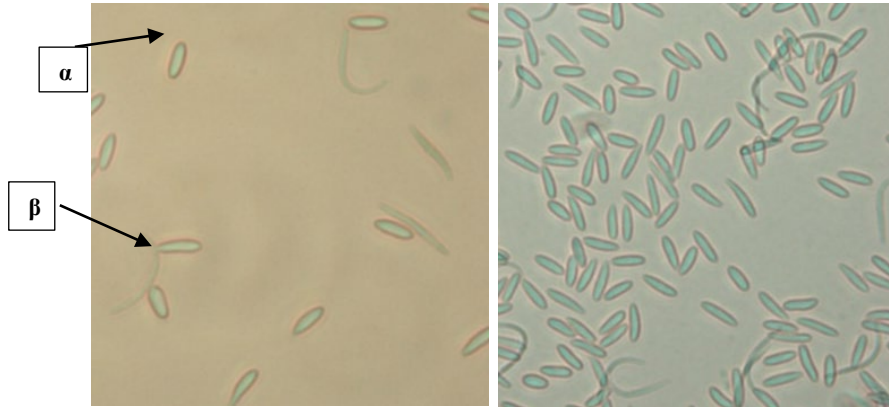
İller	Koni Çap Aralığı (cm) ve İzolat Sayıları ^a			Koloni Renkleri			Stroma Oluşumu İndex Değeri ^b				
	Grup I	Grup II	Grup II	Beyaz	Gri	Krem	0	1	2	3	4
Aydın	1 (0.44) ^c	11 (4.75)	41 (17.67)	23 (9.92)	28 (12.06)	2 (0.86)	0	1 (0.43)	4 (1.72)	30 (12.93)	18 (7.76)
Denizli	0	8 (3.45)	42 (18.10)	13 (5.6)	33 (14.23)	4 (1.72)	0	1 (0.43)	8 (3.45)	29 (12.5)	12 (5.17)
Manisa	6 (2.56)	15 (6.47)	38 (16.38)	16 (6.89)	43 (18.53)	0	3 (1.30)	1 (0.43)	4 (1.72)	45 (19.40)	6 (2.59)
İzmir	8 (3.45)	22 (9.49)	40 (17.24)	31 (13.36)	33 (14.23)	6 (2.59)	2 (0.86)	2 (0.86)	15(6.47)	47 (20.26)	4 (1.72)

a: Koni Çap Aralığı (cm): Grup I (2.28-3.85), Grup II (3.86-5.43) ve Grup III (5.44-7).

b: 0-4 skalası (1 cm²’lik alanda piknit sayısı); 0 (piknit yok), 1 (1-25), 2 (26.50), 3 (50-100) ve 4 (100<).

c: Parantez içerisinde yer alan değerler izolatların % değerini göstermektedir.

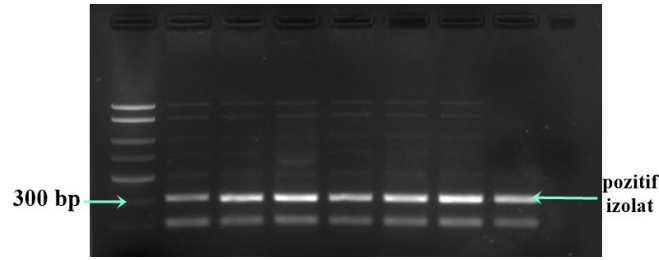
İnkübasyonun 14. gününde izolatların spor değerlendirilmesinde; izolatların hepsi PDA üzerinde α sporları üretmiş ve sadece 13 izolatta β sporları görülmüş ve α sporların yoğunluğu β sporlarına göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. α sporların boyutları ortalama 8-11.04 μm x 1.7-2.8 μm büyüklük arasında değişmiştir. β sporlar ise 20.5-25.14 μm x 0.83-1.06 μm boyutlarında olup kıvrımlı uçlar oluşturmuşlardır (Şekil 4). Toplam Aydın’da 4, Denizli’de 1, Manisa’da 3 ve İzmir’de 5 izolatta her iki spor (α ve β) tipi görünürken ve diğer izolatlarda (219 izolat) sadece α sporların varlığı belirlenmiştir.



Şekil 4. Fungal izolatların α ve β sporlarından görünümeler.

3.4. Fungal izolatlarının tanılanması

Ticari kit ile yapılan PCR testi sonucunda 232 izolattan 214’ünde beklenen 300 bp ağırlığında bandlar elde edilmiştir (Şekil 5 ve Çizelge 3). Böylece bu izolatların *P. viticola* olarak kesin tanısı gerçekleştirilmiştir. Örnekleme yapılan tüm illerde *P. viticola* izolatları elde edilmiştir. Çizelge 8’e göre Aydın ilinden 50, Denizli ilinden 50, Manisa ilinden 52 ve İzmir ilinden 62 izolat *P. viticola* izolatı olarak tanılanmıştır.



Şekil 5. *Phomopsis viticola* izolatlarının PCR ürünlerine ait elektroforetik görünümü.

Çizelge 3. PCR testi sonucunda tanımlanan *Phomopsis viticola* izolat sayılarının il ve ilçelerine göre dağılımı

İller	İlçeler	İzolat sayıları
Aydın	Nazili	18
	Koçarlı	6
	Söke	2
	Kuşadası	24
	<i>Ara Toplam</i>	50
Denizli	Çal	15
	Günay	6
	Buldan	29
	<i>Ara Toplam</i>	50
Manisa	Salihli	24
	Alaşehir	12
	Saruhanlı	16
	<i>Ara Toplam</i>	52
İzmir	Selçuk	13
	Bayındır	26
	Efem çukur	1
	Urla	1
	Menemen	14
	Kemal paşa	7
	<i>Ara Toplam</i>	62
Genel Toplam		214

3.5. İzolatların virülenslikleri

Virülenslik testinde tüm izolatlar asma sürgünlerinde siyahımsı kahverengi nekrotik yüzeysel lezyonlar meydana getirmiştir (Şekil 4). Kontrol sürgünlerinde ise nekrotik lezyon oluşmamıştır. İzolatlara göre sürgünlerde gelişen lezyonların uzunluk ortalaması 2.3-18.7 cm arasında değişmiş olup, bunlardan bazıları arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4). En virulent izolat, 18.7 cm'lik ortalama lezyon uzunluğu ile İzmir'in Bayındır ilçesinden elde edilmiş olan ve kültürde beyaz koloni oluşturup hızlı gelişme özelliğine sahip 1061B izolatı olmuştur. Bunu 15.3 cm lezyon uzunluğu ile Manisa ilinin Saruhanlı ilçesinden toplanmış kültürde gri koloni oluşturup orta hızda gelişen 998Sr izolatı takip etmiştir. Farklı illerden toplanmış ve aralarında kültürde gri ve beyaz koloni ile yavaş, orta hızda ve hızlı gelişen özellikte izolatların olduğu 14 izolat 3 cm ve altında lezyon meydana getirerek düşük virülenslik göstermişlerdir. İzolatların büyük bir çoğunluğu (28 izolat) 3.1-6.5 cm lezyon aralığında yer alarak düşük orta virülenslik derecesi göstermişlerdir. Geri kalan 5 izolat ise 7.8-11.6 cm lezyon aralığı ile yüksek orta virulent grubunda yer almıştır. Yine izolatların piknit oluşturma potansiyelinin virülenslikte belirleyici bir özellik olmadığı görülmektedir. Örneğin 4 skala değerini alan izolatlardan 799Se, 812Ku ve 783Se sırasıyla 2.4, 3.1 ve 4.1 cm uzunluğunda lezyonlar meydana getirirken en yüksek virülensliğe sahip 1061B (18.7 cm) ve 998Sr (15.3 cm) izolatları ile en düşük virülensliğe sahip 847Ku (2.3 cm) izolatı 3 nolu piktit oluşum skalasında yer almıştır. Tüm izolatların α konidi şekil ve büyüklük olarak birbirlerine benzer bulunmuşlardır. Sadece 6 izolatta β konidi bulunmuş ve bunlar virülenslik, koloni gelişimi ve rengi ile piknit oluşumu yönünden diğerlerine göre belirgin bir farklılık göstermemişlerdir. Genel olarak morfolojik özellikler (koloni rengi, gelişme hızı, piknit oluşturma ve spor büyüklükleri) ile virülenslik arasında belirgin bir ilişki bulunmamıştır.

Çizelge 4. *Phomopsis viticola* izolatlarının asma sürgününde oluşturduğu lezyonların büyüklükleri ve izolatların patates dekstroz agar besi ortamında kültürel özellikleri

İzolat	Lezyon Uzunluğu(cm) ^a	Koloni gelişim hızı	Piknit skala değeri	Koloni rengi	Alfa Spor Boyut		Beta Sporların ölçümü	
					Boy (µm)	En (µm)	Boy (µm)	En (µm)
847Ku	2.3 h ^b	III	3	Gri	9.9	2.68	-	-
799Se	2.4 gh	III	4	Beyaz	9.11	2.27	-	-
910M	2.5 gh	I	3	Beyaz	9.46	1.8	22.11	0.89
1032K	2.5 gh	III	2	Gri	9.62	1.73	-	-
1098B	2.6 gh	III	3	Gri	9.1	2.41	-	-
889G	2.6 gh	II	2	Gri	9.54	2.45	-	-
843Ku	2.6 gh	II	3	Gri	9.6	2.32	-	-
1124Sa	2.7 gh	II	2	Beyaz	8.23	1.72	20.5	0.89
1080B	2.9 gh	II	2	Gri	9.35	1.86	-	-
809Ku	2.9 gh	II	3	Gri	7.73	2.18	-	-
759Ko	2.9 gh	III	3	Gri	8.92	2.47	-	-
1065B	2.9 gh	III	3	Krem	8.67	2.29	-	-
919M	2.9 gh	II	1	Beyaz	9.45	2.25	23.79	0.99
784Se	3.0 gh	III	3	Beyaz	8.49	1.77	24.03	1.06
812Ku	3.1 fgh	III	4	Beyaz	8.73	2.53	-	-
927M	3.1 fgh	II	4	Gri	9.29	2.73	23.58	0.99
903M	3.2 fgh	II	2	Beyaz	9.78	2.45	-	-
1036K	3.3 fgh	III	2	Gri	10.69	1.72	-	-
1095B	3.3 fgh	III	4	Beyaz	8.88	2.19	-	-
947M	3.3 fgh	III	3	Beyaz	8.73	1.95	-	-
841Ku	3.4 fgh	II	3	Gri	8.45	1.79	-	-
900Bu	3.4 fgh	III	3	Krem	9.20	2.68	-	-
1227Na	3.4 fgh	III	3	Beyaz	9.28	2.36	-	-
1137Sa	3.5 fgh	I	0	Gri	9.23	2.35	-	-
1071B	3.6 fgh	III	3	Krem	8.78	1.85	-	-
1024K	3.8 fgh	II	3	Krem	5.42	1.79	-	-
962M	3.8 fgh	III	3	Gri	8.77	1.83	-	-
899Bu	3.8 fgh	II	1	Gri	8.74	2.43	-	-
1045K	3.9 fgh	II	3	Gri	9.61	1.73	-	-
783Se	4.1 fgh	II	4	Gri	8.59	2.8	-	-
1216Na	4.3 fgh	II	1	Beyaz	11.03	2.78	-	-
1108Sa	4.3 fgh	II	3	Beyaz	10.87	1.74	-	-
770Sö	4.6 efg	II	3	Gri	9.57	1.79	-	-
785Se	4.6 efg	II	3	Beyaz	5.39	1.71	-	-
781Se	4.7 efg	III	3	Beyaz	9.52	1.7	-	-
1027K	4.7 efg	II	2	Beyaz	8.17	1.81	-	-
1248Bu	4.8 efg	II	3	Beyaz	9.36	2.18	-	-
1005Sr	4.9 efg	II	3	Gri	10.86	2.78	-	-
961M	5.3 efg	III	2	Beyaz	10.32	2.33	-	-
1252Bu	5.5 efg	III	3	Beyaz	10.19	2.87	-	-
1091B	5.8 efg	III	1	Beyaz	8.77	2.37	-	-
828Ku	6.5 def	II	3	Gri	9.34	2.29	-	-
1049B	7.8 de	III	3	Beyaz	8.78	1.96	-	-
780Se	7.9 de	III	3	Gri	9.21	1.8	-	-
1207Al	9.2 cd	II	3	Gri	8.1	1.45	-	-
861Ç	11.5 c	III	3	Gri	8.01	1.73	-	-
878Ç	11.6 c	III	3	Beyaz	10.36	2.8	-	-
998Sr	15.3 b	II	3	Gri	9.24	2.31	23.91	0.91
1061B	18.7 a	III	3	Beyaz	9.52	1.51	-	-

Not: Na Nazilli, Ku Kuşadası, Sö Söke, Ç Çal, Bu Buldan, Se Selçuk, M Menemen, K Kemalpaşa, B Bayındır, Sr Saruhanlı, Sa Salihli, Al Alaşehir.

a: Patojenite testinde her bir izolat için hesaplanan sürgün lezyonlarının değerlerini ifade etmektedir.

b: Ortalama değerler arasında istatistikî fark Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre yapılmıştır. Sütun boyunca aynı harfi alan değerler arasında fark istatistikî olarak önemli değildir.



Şekil 4. *Phomopsis viticola* ile inokule edilen sürgünlerde inkübasyonun 15. gününde lezyon oluşumu.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, Ege Bölgesinin bağ alanlarının yoğun olduğu Manisa, İzmir, Denizli ve Aydın illerinin örnekleme yapılan tüm ilçelerinde Ölükol Hastalığının belirtilerini gösteren asma bitkilerinin varlığına rastlanmıştır. Hastalıklı bitkilerde dip yapraklarda gelişen sarı klorotik lekelerin yanı sıra sürgün diplerinde nekroz ve derin çatlakların salkım sağlığını olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Geçmişte Ege Bölgesinde Ölükol Hastalığının varlığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (Karaca ve Eroğlu, 1967; Özhendekçi, 1978; Erkan ve Larignom, 1998; Arı, 2000; Yıldırım, 2014). Oldukça geniş sürvey alanında yapılan bu çalışma ile ölü kol hastalığının günümüzde de Ege Bölgesinde bağ yetiştiriciliğinde önemini halen devam ettirdiği ortaya konmuştur. Nitekim Tarım ve Orman Bakanlığının yayınladığı teknik talimatlarda Türkiye’de Ölükol Hastalığı asmanın en önemli dört ana hastalığından biri olarak kabul edilmektedir (Anonim, 2011).

Ölükol belirtileri gösteren asmalardan alınan doku örneklerinden elde edilen 232 adet *Phomopsis* spp. izolatı arasında kültürel özellikleri arasında belli düzeylerde farklılıkların olduğu belirlenmiştir. İzolatların çoğunluğu (% 69.39) hızlı gelişme gösterirken, sınırlı sayıda izolatta (15 adet) yavaş gelişme gözlemlenmiştir. Koloni rengi değerlendirmelerinde izolatların % 35.77’si beyaz, % 59.05’si gri ve % 5.17 açık krem renkte koloni oluşturmuştur. *Phomopsis* cinslerinin besi ortamında W (beyaz renkli koloni) ve G (gri renkli koloni) olmak üzere iki farklı renkte koloni oluşturduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Kanematsu ve ark., 1999; Kanematsu ve ark., 2000; Awan, 2017). Awan (2017), Ege Bölgesi bağ alanlarından izole edilen *P. viticola* izolatları arasında her iki koloni rengine sahip izolatlara rastlandığı ve W tipi koloniye sahip olanların gelişme hızı ve virülensliğinin G tipte olanlara göre daha düşük olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda beyaz ve açık krem renkli kolonileri olan izolatlar hızlı ve orta hızda koloni gelişim göstermişken, kolonileri gri renkte olan izolatlar % 70.8 oranında hızlı gelişim göstermiştir. Ancak bu çalışmada izolatlarda oluşan beyaz ve gri koloni renkleriyle virülenslik şiddeti arasında herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Bunun dışında çalışmada izolatlarda gözlemlenen koloni gelişim hızı, piknit oluşumu ile spor tipi ve büyüklükleri gibi diğer morfolojik özellikler ile virülenslik arasında bir ilişki kurulamamıştır. Tüm virülenslik gruplarında hemen hemen her morfolojik özellikte izolatlar yer almıştır.

Morfolojik olarak PCR negatif ve PCR pozitif izolatların arasında büyük bir farklılıklara rastlanmamıştır. Bu nedenle *P. viticola*’nın doğru tanımlanması için moleküler tanının yapılması gerekmektedir. Akgül ve ark. (2015), asma gövde fungal hastalıklar ile ilgili yaptıkları çalışmada yaklaşık 350 sürgün örneğinden sekiz farklı tür asma gövde fungal etmeni izole etmişlerdir. Çalışmada *Diaporthe ampelina* (*P. viticola*), etmeni krem renkte koloniler, alfa ve beta sporları ile tanımlamıştır.

İzolatların piknit oluşum değerlendirmesinde ise, izolatların % 97.84’ünde piknit oluşumu gözlemlenirken piknit yoğunluğunda farklılıklar saptanmıştır. Sadece 5 izolatta piknit oluşumu gözlemlenmemiştir.

Besi ortamında izolatlardan sadece 13 adeti alpha ve beta sporlardan her ikisini de oluştururken izolatların büyük çoğunluğunda (% 94.39) sadece alpha konidi görülmüştür. Beyaz ve açık krem renkli olan izolatlarda alfa ve beta sporları görülmüş ve gelişme hızı ve büyüme çapı gri renkli kolonileri olan izolatlara göre daha az ve dar büyüme halkaları ile gelişme göstermiştir. *P. viticola* diğer *Phomopsis*

türleri gibi piknidium içindeki α ve β sporların oranı ve boyutları önemli ölçüde değişebilmektedir (Uecker, 1998; Sergeeva ve ark., 2003; Özben, 2011; Awan, 2017). Schilder ve ark. (2005), asma örneklerinden izole edilen *P. viticola* izolatların ortalama α sporların boyutlarının $9.8-12.6 \times 3.1-4.5 \mu\text{m}$ arasında olduğunu saptamışlar ve bu boyutların Mostert ve ark. (2001), ve Pearson ve Goheen (1994), çalışmalarından farklı olduğunu ve farklılığın nedeninin büyüme ortamındaki farklılıklar veya izolatlar arasındaki genetik farklılık olabileceğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda sırasıyla $8-11.04 \mu\text{m} \times 1.7-2.8 \mu\text{m}$ boyutta alfa ve beta sporları saptanmış ve bu değerler Schilder ve ark. (2005), çalışmasında ifade edilenlere yakın olsa da genel olarak yine de farklı oldukları söylenebilir. Ayrıca Akgül ve ark. (2015), tarafından *Diaporthe ampelina* (*P. viticola*), etmeninin Alfa ve beta sporlarının ortalama boyutları sırasıyla 10.0×2.4 ve 22.5×1.0 olarak ölçülmüştür.

Çalışmamızda izole edilen 214 *P. viticola* izolatının End-Point PCR kiti kullanılarak moleküler tanısı başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Türkiye’de geçmişte yapılan birçok çalışmada *P. viticola*’nın tanısı sadece morfolojik özelliklere bakılarak yapılmıştır (Karaca ve Eroğlu, 1967; Onoğur 1985; Çetinkaya ve Onoğur, 2006; Özben, 2011; Yıldırım, 2014). *Phomopsis* spp.’nin moleküler tanısı DNA’nın farklı gen bölgelerinin polimeraz zincir reaksiyonları (PCR) ile çoğaltılması ve filogenetik analizler ile gerçekleştirilmiştir (van Niekerk ve ark., 2005; Santos ve ark., 2010; Udayanga ve ark., 2011 ve Gomes ve ark., 2013). Akgül ve ark. (2015), Türkiye’nin Ege Bölgesi İzmir ve Manisa İlleri bağ alanlarından sultaniye çekirdeksiz asmalardan elde edilen ölü kol izolatlarının kültürel özelliklerinin yanısıra ITS, TUB ve EF1- α gen bölgelerinin dizi analizleri ile tanı çalışmaları sonrasında ve *P. viticola* teleomorf *D. ampelina* ile ilişkilendirilmiştir. Awan (2017), 23 *Phomopsis* (*Diaporthe*) spp. izolatın, PCR da universal primerler kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin DNA dizilim analizi sonrasında *P. viticola* olduklarını saptamışlardır. Güngör Savaş, 2019 yılında Ege Bölgesinde Manisa ilinin Şehzadeler, Salihli ve Akhisar ilçeleri ile Marmara Bölgesi Tekirdağ ilinden toplanan odun dokusu patojen izolatlarının ITS1 ve ITS4, Bt2a ve Bt2b primerler kullanılarak elde ettikleri PCR ürünlerinin DNA dizi analizleri sonucunda *P. viticola*’nın tanısı yapılmıştır.

Geçmişte *P. viticola* izolatlarının farklı asma çeşitlerinin yeşil sürgünlerin üzerinde patojenisite testi birçok araştırmacı tarafından yapılmış ve yapılan tüm çalışmalarda *P. viticola*’nın patojenik olduğu ve virülenslik açısından izolatlar arasında farklılıkların olduğu bildirilmiştir (Baumgartner ve ark., 2013; Urbez-Torres ve ark., 2013 ve Awna, 2017). Nitekim Türkiye’de yapılan bir çalışmada, yıllık Tarsus Beyazı asma çeşidini yeşil sürgünleri ile yapılan patojenisite testin sonucunda izolatlar arasında virülensliği yüksek izolatların yanısıra düşük olanların da varlığı bildirilmiştir (Awan, 2017). Bu çalışmada da sürgünlerde yapılan patojenisite testinde izolatların tümünde Ölükol belirtileri gözlemlenmiş olup ve izolatlar arasında farklı virülenslik dereceleri saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada Ege Bölgesinde bağ alanlarında Ölükol belirtisi gösteren bitkilerden elde edilen izolatların büyük bir çoğunluğunun *P. viticola* olduğu ortaya konmuştur. Bu bulgular Ege Bölgesi bağ alanlarında Ölükol Hastalığından sorumlu ana patojenin *P. viticola* olduğunu göstermektedir. Asmalarda diğer *Phomopsis* türlerinin yanısıra farklı *Diaporthe* türlerinin de Ölükol Hastalığına yakın belirtiler verdiği daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Ancak bu çalışma ile Ege Bölgesi bağ alanlarında diğer *Phomopsis* türlerinin ekonomik açıdan önemli olmadığı anlaşılmaktadır. Bu çalışmada gen dizilimi analizi yapılmamış olması nedeniyle *P. viticola* izolatlarının hangi teleomorf *Diaporthe* türü ile ilişkili olduğunu kesin olarak söylemek mümkün değildir. Ancak bölgede daha önce yapılan çalışmalarda *P. viticola* izolatları sıklıkla *Diaporthe ampelina* ile ilişkilendirilmiştir (Akgül ve ark., 2015; Awan, 2017). Bu raporlara göre çalışmada elde edilen izolatların *D. ampelina* olma olasılığı oldukça yüksektir. Ancak bu durumun açıklığa kavuşturulması için izolatların DNA dizilim analizleri ile teleomorf tanılarının yapılması faydalı olacaktır. Bu çalışmanın sonuçları bölgede hastalıkla ilgili gelecekte yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

217O293 proje numarası ile bu çalışmayı destekleyen TÜBİTAK-TOVAG’a teşekkür ederiz. Bu çalışma doktora tezden elde edilmiştir. Bu çalışma yayın etiğine uymakta. Bu çalışmada etik kurul onayı gerektirmemektedir. Bu çalışmada yazarlar arasında herhangi bir potansiyel çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynakça

- Anonim. (2019a). Kilis Üzüm Raporu, T.C. İpekyolu Kalkınma Ajansı.
- Anonim (2019b). Tarım Ürünleri Piyasaları. Tarımsal Ekonomi Politika Geliştirme Enstitüsü. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge>. Erişim Tarihi: 11.03.2020.
- Anonim. (2011). Ziraî Mücadele Teknik Talimatları. Gıda, tarım ve hayvancılık bakanlığı, tarımsal araştırmalar ve politikalar genel müdürlüğü, 23-82.
- Akgül, D. S., Savas, N. G., Teker, T., Keykubat, B., Mayorquin, J. S., & Eskalen, A. (2015). Fungal trunk pathogens of Sultana Seedless vineyards in Aegean region of Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 54(2), 380.
- Arı, M. E. (2000). A general approach for esca disease in the vineyards of Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 39 (1), 35-37.
- Awan, Q. N. (2017), *Characterization of Phomopsis isolates causing phomopsis dieback of grapevine and their sensitivity against some fungicides and hot water treatments*. (MSs), Çukurova University Institute of Natural and Applied Sciences Adana, Turkey.
- Baumgartner, K., Fujiyoshi, P. T., Travadon, R., Castlebury, L. A., Wilcox, W. F., & Rolshausen, P. E. (2013). Characterization of species of Diaporthe from wood cankers of grape in eastern North American vineyards. *Plant Disease*, 97(7), 912–920.
- Çetinkaya, N., & Onoğur, E. (2006). Organik yetiştiricilik yapılan yuvarlak çekirdeksiz üzüm bağlarında farklı gübreleme uygulamalarının külleme hastalığı gelişimi ve verime etkileri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 43 (1), 33-44.
- Erincik, O., Açıköz, S., & Döken, M. T. (2018). *Aydın ilinde cryphonectria parasitica'nın hypovirulent strainleri kullanılarak kestane kanseri hastalığı ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması ve uygulanması*. TÜBİTAK, TOVAG 114O403 nolu Proje Bitirme Raporu. Ankara.
- Erincik, Ö., Özdemir, Z., Durdu, Ö. F., Döken, M. T., & Açıköz, S. (2011). Diversity and spatial distribution of vegetative compatibility types and mating types of *Cryphonectria parasitica* in the Aydın Mountains, Turkey. *Eur J Plant Pathol*, 129, 555–566,
- Erkan, M., & Larignom, P. (1998). Fungi associated with esca disease in grapevines in the Aegean Region. *Turk. Phytopath*, 27, 2-3, 137-143.
- Food and Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). (2018). <http://faostat.fao.org/site/535> Erişim Tarihi: 28.07.2020.
- Gomes, R. R., Glienke, C., Videira, S. I. R., Lombard, L., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, 31, 1–41.
- Güngör Savaş, N. (2019). *Asmalarda fungal odun doku hastalık komplekslerinin tanılanması ve yönetimi*. Uluslararası Multidisipliner Akademik Çalışmalar Sempozyumu, İzmir/Türkiye.
- Hosseinalizadeh, S., Erincik, Ö., & Açıköz, S. (2020). Screening of some plant pathogenic fungi for the presence of dsRNA mycoviruses. *Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin*, 60 (1), 57-62.
- Kanematsu, S., Minaka, N., Kobayashi, T., Kudo, A., & Ohtsu, Y. (2000). Molecular Phylogenetic Analysis of Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer Regions and Comparison of Fertility in *Phomopsis* Isolates from Fruit Trees. *Journal of General Plant Pathology*, 66(3), 191–201.
- Kanematsu, S., Kobayashi, T., Kudo, A., & Ohtsu, Y. (1999). Conidial Morphology, Pathogenicity and Culture Characteristics of *Phomopsis* Isolates from Peach, Japanese Pear and Apple in Japan. *Japanese Journal of Phytopathology*, 65(3), 264–273.
- Karaca, İ., Eroğlu, G. (1967). Türkiye bağlarında yeni bir hastalık'ölü kol' üzerinde araştırmalar. *Ege Ü. Z. Fak. Dergisi* 4, (2) 28-35.
- Merrin, S. J., Nair, N. G., & Tarran, J. (1995). Variation in *Phomopsis* recorded on grapevine in Australia and its taxonomic and biological implications. *Australasian Plant Pathology* 24, 44–56.
- Mostert, L., Crous, P. W., Kang, J-C., & Phillips, A. J. L. (2001). Species of *Phomopsis* and a *Libertella* sp. occurring on grapevines with specific reference to South Africa: morphological, cultural, molecular and pathological characterization. *Mycologia* 93, 146–167.
- Mostert, L. (2000). the characterization and control of *Phomopsis* cane and leaf spot on vine. (MSc), Science in Agriculture at the University of Stellenbosch, South Afrikaans.

- Niekerk, J. M., Groenewald, J. Z., Farr, D. F., Fourie, P. H., Halleen, F., & Crous, P. W. (2005). Reassessment of *Phomopsis* species on grapevines. *Australasian Plant Pathology*, 34, 27–39.
- Nita, M., Ellis, M. A., Wilson, L. L., & Madden, L. V. (2006). Evaluation of a Disease Warning System for *Phomopsis* Cane and Leaf Spot of Grape: A Field Study. *Plant Disease*, 90-1239.
- Onoğur, E., Kaçar, E., & Çetinkaya, N. (1988). Untersuchungen über die Rolle der Phytoalexine bei der Resistenz von Weinrebe gegenüber *Phomopsis viticola*. *J. Turk. Phytopath*, 17(3), 143.
- Özben, S. (2011). *Ankara ili bağ alanlarında görülen fungal hastalıkların ve yaygınlık oranlarının belirlenmesi*. (YL), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ankara, Türkiye.
- Özhendekçi, N. (1978). Kocaeli, Sakarya ve İstanbul illerinde bağlarda Ölü kol hastalığını yapan etmen (*Phomopsis viticola*) üzerinde ön çalışmalar. *Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı* Sayı:12.
- Pearson, R. C., & Goheen, C. (1994). *Phomopsis* cane and leaf spot. In: Hewitt WB, Pearson RC, eds. Compendium of grape diseases. *St. Paul, Minnesota: APS Press*, 17-18.
- Poyraz, D., & Onğur, E. (2011). Bağlarda Kav ve Petri Hastalıkları. *Anadolu Journal of AARI* 22 (2), 69–81.
- Rawnsley, B. (2002). *Phomopsis taxon 1 on grapevine: pathogenicity and management*. (PhD), University of Adelaide, Department of Applied and Molecular Ecology Faculty of Sciences, Adelaide, South Australia.
- Schilder, A. M. C., Erincik, O., Castlebury, L., Rossman, & A., Ellis, M. A. (2005). Characterization of *Phomopsis* spp. Infecting Grapevines in the Great Lakes Region of North America. *Plant Disease*, 89, 755-762.
- Sergeeva, V., Nair, N. G., Barchia, I., Priest, M., & Spooner-Hart, R. (2003). Germination of β conidia of *Phomopsis viticola*. *Australasian Plant Pathology*, 32, 105–107.
- Udayanga, D., Liu, X., McKenzie, E. H. C., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H. A., & Hyde, K.D. (2011). The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity* 50, 189–225,
- Uecker, F.A. (1998). A World list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology. *Mycologia Memoir*, 13, 1-231.
- Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., Smith, R. J., & Gubler, W. D. (2013). *Phomopsis* dieback: a grapevine trunk disease caused by *Phomopsis viticola* in California. *Plant Disease*, 97(12), 1571–1579.
- Van Niekerk, J. M., Groenewald, J.Z., Farr, D.F., Fourie, P. H., Halleen, F., & Crous, P. W. (2005). Reassessment of *Phomopsis* species on grapevine. *Australasian Plant Pathology*, 34, 27–39.
- Yıldırım, I. (2014). Influence of some food additive chemicals to *Phomopsis viticola* sacc. Review on *Agriculture and Rural Development*, 3 (1), 2063-4803.



Research Article (Araştırma Makalesi)

Determination of the Stress Responses and Mineral Compositions of Some Common Wheats (*Triticum aestivum* L.) under Salt Treatment

Hasan CAN^{*1}, Mehmet HAMURCU², Sait GEZGIN³, Erdogan Esref HAKKI⁴

¹Kyrgyz-Turkish Manas University Univ., Agr. Faculty, Field Crop and Horticulture Dep., Bishkek, Kyrgyzstan

^{2,3,4}Selcuk University, Agriculture Faculty, Soil Science and Plant Nutrition Department, Konya, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-3276-0106> ²<https://orcid.org/0000-0001-7378-4406> ³<https://orcid.org/0000-0002-3795-4575>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-7147-7875>

*Corresponding authors e-mail: hasancan194@yahoo.com.tr

Article Info

Received: 30.09.2020

Accepted: 23.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.802653

Keywords

HKT genes,
K/Na rate,
Proline,
Wheat,
Salt tolerance,
Salinity stress.

Abstract: The aim of this research is to evaluate and analyze the influence of different degrees of salt stress on the tolerance of Australian wheat lines having characteristics derived from wild types in comparison with a local cultivar well-adapted to Anatolian conditions under controlled conditions. In the research, the two lines, namely AU5924 and AU5907, adapted to Australian conditions harbor *HKT1;4* and *HKT1;5* loci and Bayraktar 2000 cultivar used as genetic material. In our study, a trial plan with four replicates and two salt treatment doses (0 mM control group and 200 mM stress group) was designed. The samples were collected for elemental analysis, measuring physiological parameters as well as determining proline content after the appearance of stress symptoms. In this respect, (K), known to play an important role in enhancing stress tolerance, was found to be higher in *HKT*-containing lines in comparison to Bayraktar 2000. *HKT* genes could improve the production of Anatolian varieties. While the dry weight of the genotype Bayraktar 2000 was higher than the lines checked, the proline content of line 5907 was lower and the potassium and (K/Na) ratio decreased. These parameters effectively increased the dry weight under salt stress. However, the line 5907 demonstrated the best tolerance among all analyzed genotypes.

Bazı Ekmeklik Buğdayların Tuz Uygulamasına Tepkileri ve Besin Elementi İçeriklerinin Belirlenmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 30.09.2020

Kabul: 23.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.802653

Anahtar kelimeler

HKT genleri,
K/Na,
Proline,
Buğday,
Tuz tolerans,
Tuz stresi.

Öz: Bu çalışmanın amacı, yabancı formların genetik özelliklerinden yararlanarak elde edilen Avustralya kökenli buğday hatları ile Anadolu'ya uyum yapan yerel buğday çeşidimizin tuz stresinden ne derece etkilendiklerini karşılaştırmalı ve kontrollü koşullarda irdelemektir. Araştırmada, Avustralya koşullarına uyum yapan ve *HKT1;4* ile *HKT1;5* lokuslarını taşıyan AU924 ve AU5907 hatları ile Bayraktar 2000 çeşidi kullanılmıştır. Deneme; kontrol (0 mM) ve stres koşullarında (200 mM) iki doz ve 4 tekrarlamalı olarak düzenlenmiş; stres etkisindeyken prolin ve element analizi için örneklenme ile temel bazı fizyolojik büyüme parametrelerinin saptanmasına yönelik gözlemlerin yapılmıştır. Buna göre, parametreler ile kritik bazı makro ve mikro besin elementleri açısından genotiplerin tuz stresinden olumsuz etkilendikleri saptanmış, strese toleransın artışında pay sahibi olan (K) içeriğinin, toleranslı olduğu bilinen *Nax* taşıyıcısı yabancı buğday hatlarında yerel çeşide göre daha yüksek olduğunun anlaşılması ve bu bakımdan etkili genlerin Anadolu kökenli buğday çeşitlerine

aktarılmasının tuzlu ortamlarda buğday üretimimizin artırılmasına katkı sağlayabileceği sonucuna varılmış; kuru ağırlık açısından en iyi genotipin Bayraktar 2000 olduğu saptanmış, AU5907'deki prolin içeriğinin diğerlerinden daha düşük ve (K) ile (K/Na) oranlarındaki azalma, tuz stresinde artış göstererek, AU5907'deki tuza tolerans diğerlerine göre ön plana çıkmıştır.

1. Introduction

The demand for cereals has been growing tremendously worldwide and the most cultivated and important one is common wheat (*Triticum aestivum*), in other words, the common wheat is the most consumed cereal globally (Wang et al., 2020). Together with other major cereals (*Zea mays*, *Oryza sativa*), *T. aestivum* is the most vulnerable to stress (Zörb et al., 2019). The extremely harsh environmental conditions such as drought, salinity, heavy metal, etc. could severely reduce wheat production. For example, drought and salinity stress, especially in arid and semi-arid regions affect the wheat production severely. Both these stress conditions have become major concerns of the modern world and therefore getting increasing attention. Salinization, especially in cultivated (approximate 20% of cultivated and 33% of irrigated land) areas is a major yield-limiting factor (Cirillo et al., 2018). As the vital necessities (such as nutrient, water, light, etc.) of plants during the growing stage are not met properly, the majority of plant yield including that of wheat is reduced in the cultivation area (Zörb et al., 2019). The salinity impairs more than one of these basic factors by manipulating the plants in two ways: first, ion toxicity that impairs photosynthesis and second is excess of (Na) that inhibits protein synthesis (Isayenkov and Maathuis, 2019).

The dominant reason for the emergence of salinization-based soil pollution is the heavily used irrigation system in agricultural production for providing food supply. A larger area of irrigated lands has been severely affected by the increased salinity in the soil ecosystem (Singh, 2010; Valipour, 2014). To be considered a soil type as salty, it must contain at least 4 dS m⁻¹ EC values in which equal to the 40 mmol L⁻¹ NaCl or 0.2 MPa osmotic pressure together with 7.0 to 8.5 pH value (Ghosh et al., 2016).

Considering these challenges, the development of new tolerant varieties is required to provide food supply to the growing world populations. In this respect, wild types are an indispensable source for the development of tolerant varieties. To cope with salinity stress, some other salt-tolerant loci have been discovered and transferred to the modern wheat varieties from their wild relatives such as einkorn wheat (*Triticum monococcum*) and entitled to *Nax1* and *Nax2* loci (James et al., 2006).

The main aim of the present study was to determine the changes in the mineral nutrition profile of some wheat genotypes under salinity stress conditions and observe physiological responses of selected wheat genotypes at an early stage. The *Nax* locus introgressed lines were obtained from Australia; these lines can be easily screened for the *Nax* locus using specific molecular markers. However, a preliminary study including the comparisons between the cultivar well adapted to the Central Anatolian conditions and provided lines should be realized and their activities should be checked under saline conditions.

2. Material and Methods

2.1. Experimental materials

AU5924 and AU5907 common wheat (*T. aestivum* L.) lines (kindly provided by CSIRO) that are carriers of *HKT1;4* (*Nax2*), and *HKT1;5* (*Nax1*) salinity tolerance loci and the Bayraktar 2000 wheat (*T. aestivum* L.), a registered variety, which is frequently cultivated under the Central Anatolian conditions, were used to investigate stress responses and mineral nutrient contents under the salinity stress conditions. Major differences of selected genetic materials are summarized as follows: the AU5924 and AU5907 lines were derived by introducing *T. monococcum* originated *HKT* loci, whereas the Bayraktar 2000 has the salinity stress tolerant loci.

2.2. Experimental details

The seeds were sterilized using sodium hypochlorite containing Tween 20 and subsequently in 75% ethanol for 5 min (Hamurcu et al., 2015). The experiment was performed according to a randomized plot design in a hydroponic chamber with four replications. For salinity stress treatment, based on our preliminary results, 200 mM salt concentration was used as the salinity stress, whereas Hoagland solution prepared without any salt addition was used as the control group. Germinated seeds were transferred and grown under the following conditions; 45% to 55% humidity, 16/8 h light/dark photoperiod, a temperature of 21 ± 1 °C, and 10 000 Lux/daylight intensity (Hamurcu et al., 2015). For the salt application, the plants were allowed to reach the first three-leaved stage after which salt treatments were applied in each pot of stress group solution, whereas the control group continued to grow without salt addition (harvested at the end of 3 weeks).

2.3. Plant growth measurements

Before harvesting, roots and stems of control and salt-treated plant samples were separated from each other. Root and stem lengths and root and stem fresh weights of each group were measured (Munns and James, 2003).

2.4. Elemental analysis

The plant samples were dried at 70 °C until their weight became constant. Afterward, all samples were fine powdered separately using a grinder. Plant samples were mineralized (CEM Mars 5) by heating at 210 °C in a microwave oven and using a high-pressure step (200 PSI). After cooling, the mineralized samples were leached from 1 to 2 µm filter paper (Whatman no: 42) and filled up to 15 mL with ultrapure water in falcon tubes (Hakki et al., 2014). Standard solutions were prepared, and calibration of inductively coupled plasma optical emission spectroscopy was performed using multi-element stock solutions of 1000 ppm (Merck). The concentrations of (B), (Ca), (Cu), (Fe), (K), (Mg), (Na), and (Zn) were determined using the ICP-AES (Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy) apparatus.

2.5. Proline analysis

The method introduced by Bates et al. (1973) was used to determine the proline content. The absorbance value of the toluene fraction aspirated from the liquid phase was read at 520 nm in the spectrophotometer. The proline concentration in the analyzed samples was calculated using the calibration curve and expressed as µ mol proline g⁻¹ fresh weight.

2.6. Statistical analysis

The observations and measurements were first subjected to variance analysis according to the randomized blocks factorial experiment pattern using MSTAT-C statistical software package program. LSD analysis was done to the mean of traits that were found to be at least 5% significant among the analyzed traits. A correlation test was performed using MSTAT-C statistical software.

3. Results

3.1. Plant growth responses of wheat genotypes under salt-stress

The seedlings of wheat grown under salinity stress in the hydroponic chamber displayed a significant reduction in root and leaf length, and root and leaf fresh and dry weights. Plant growth responses of wheat genotypes under salt stress are shown in Figures 1–3. While the maximum plant height was observed in the Bayraktar 2000 under control condition in comparison with the remaining lines, it also exhibited the highest percentage decrease (20%) under salt stress (Figure 1A). The percentage reduction in plant heights in the lines AU5907 and AU5AU924 was found to be 10% and

8%, respectively. In the case of root lengths, the maximum percentage reduction was detected in the line AU5924 (29%) and root length in the line AU5907 showed a 22% decrease, whereas the decrease in the root length of Bayraktar 2000 was 19% in comparison to the control groups of same genotypes (Figure 1B).

As shown in Figure 2B, the reduction in the plant dry weight of wheat seedlings varied from 26% to 28%. As an exception to the pattern of reduction in the dry matter content, the fresh and dry weight results in the line AU5907 were found to be the same under both conditions (Control and Salinity stress). Regarding the root fresh weights of wheat seedlings, the reduction rates in root fresh weight of genotypes included in the presented study were – the Bayraktar 2000 (38%), the line AU5924 (27%), and the line AU5907 (25%) (Figure 3A). However, root dry weight results appeared to be significantly different from the fresh weight results (Figure 3B).

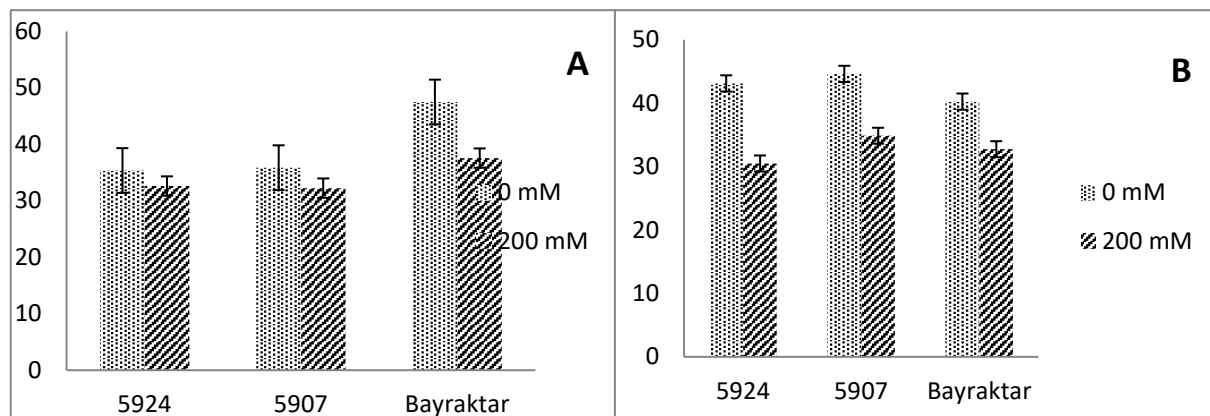


Figure 1. Plant and root length of evaluated wheat genotypes under salinity stress and normal conditions (A: Plant length (cm), B: Root length (cm)).

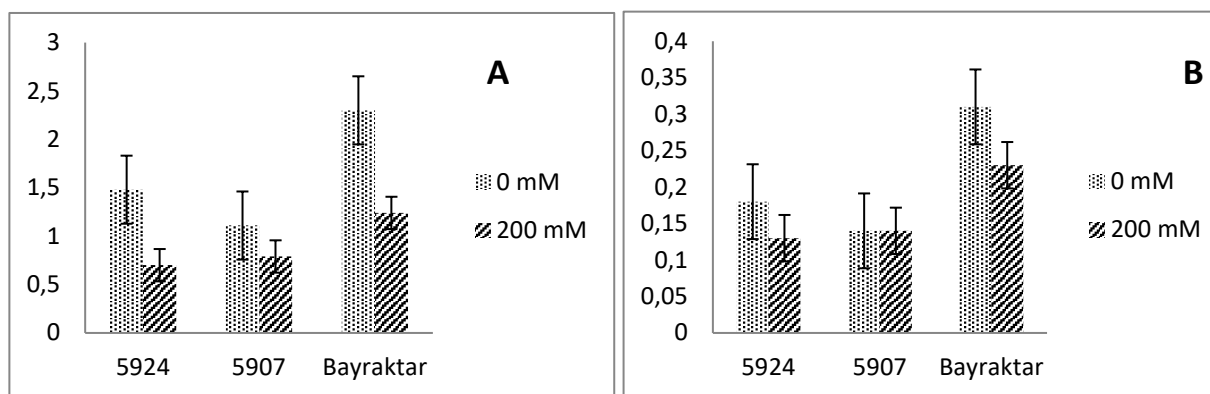


Figure 2. Plant fresh and dry weight of evaluated wheat genotypes under salinity stress and normal conditions (A: Plant fresh weight (g), B: Plant dry weight (g)).

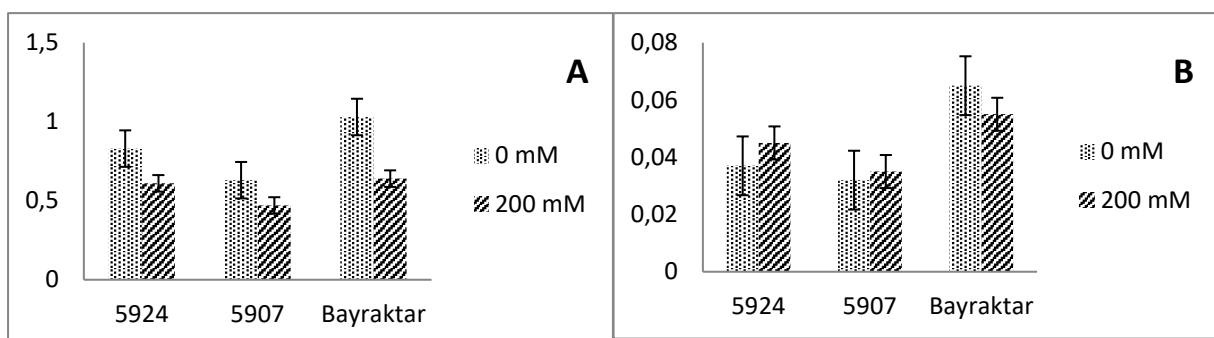


Figure 3. Root fresh and dry weight of evaluated wheat genotypes under salinity stress and normal conditions (A: Root fresh weight (g), B: Root dry weight (g)).

3.2. Mineral nutrients of wheat seedlings against salt–stress

After determining the concentrations of macro–and microelements in the analyzed wheat seedlings samples, a literature survey related to these elements in plant metabolism was conducted to identify the permissible limits. These limits varied from 0.2% to 1.0% for (Ca), 1% to 5% for (K), 0.1% to 0.4% for (Mg), 10 to 200 mg kg⁻¹ for (B), 5 to 30 mg kg⁻¹ for (Cu), 100 to 500 mg kg⁻¹ for (Fe), and 25 to 150 mg kg⁻¹ for (Zn) (Maathuis, 2009; Rattan, 2015).

The ICP–AES (Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy) data revealed a substantial difference in the concentration of minerals in wheat seedlings under salinity stress. The root and shoot macro–and micronutrient contents of wheat seedlings are summarized in Tables 1–2. In the case of (Ca), the concentration of root and shoot decreased (percentage) by approximately half in comparison with that under salinity stress (Table 1). (Mg) concentration in the roots and shoots of wheat seedlings ranged from 0.177% to 0.279% in shoots (control), 0.159% to 0.198% in shoots (stress), 0.144% to 0.211% in roots (control), and 0.018% to 0.025% in roots (stress) (Tables 1–2). The (Na) content of included wheat genotypes substantially varied in control and salt applied groups as follows: 0.078% to 0.176% within control shoots, 2.1% to 2.7% within stressed shoots, 0.543% to 1012% within control roots, and 2.2% to 3.3% within stressed roots (Tables 1–2). As in (Mg), salinity significantly influenced the (K) content of roots and shoots of seedlings as compared with the control groups, ranging from 3.8% to 4.6% in the control group of shoot samples, from 3.1% to 3.8% in stressed shoot samples, from 4.9 to 5.6% in the control root samples, and from 1% to 1.4% in stressed root samples (Tables 1–2).

Table 1. Shoot macro (%) and micronutrient (mg kg⁻¹) concentrations of wheat under salinity stress condition and control

Genotype	(Ca)		(Mg)		(Na)		(K)	
	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress
AU5924	0.513	0.304	0.253	0.198	0.112	2.709	4.330	3.777
AU5907	0.604	0.285	0.279	0.196	0.176	2.553	4.624	3.800
Bayraktar 2000	0.546	0.371	0.177	0.159	0.078	2.180	3.840	3.178
Genotype	(B)		(Cu)		(Fe)		(Zn)	
	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress
AU5924	9.0	7.3	11.7	7.0	112.4	47.3	67.3	33.3
AU5907	11.2	6.1	11.4	6.7	74.4	51.0	68.8	33.2
Bayraktar 2000	7.8	5.2	9.1	5.9	67.6	67.08	57.8	45.3

Concerning micronutrients, the (B) contents of the shoot of wheat seedlings were found to be significantly different, ranging from 7.8 to 11.2 mg kg⁻¹ in the control group and from 5.2 to 7.3 mg kg⁻¹ under salinity stress (Table 1). In root samples, (B) contents fluctuated between 2.47 and 3.51 mg kg⁻¹ in the control group and between 0.44 and 1.06 mg kg⁻¹ under salinity stress (Table 2). (Cu) concentrations of wheat seedlings were found to range from 9.1 to 11.7 mg kg⁻¹ and from 5.9 to 7.0 mg kg⁻¹ in control and stressed conditions, respectively, in shoot dry weights (Table 1). The (Fe) concentrations were: 67.6 to 112.4 mg kg⁻¹ in shoot control and 47.3 to 67.08 mg kg⁻¹ in shoot stress (Table 1). The (Fe) concentrations of root samples were detected to range from 494.4 to 963.7 mg kg⁻¹ in control and 995.6 to 1122.7 mg kg⁻¹ under stress (Table 2). Finally, the (Zn) levels in the analyzed wheat seedlings were: 57.8 to 67.3 mg kg⁻¹ in the control shoot and 33.2 to 45.3 mg kg⁻¹ in the stressed shoot (Table 1), whereas it ranged from 106.5 to 289.4 mg kg⁻¹ in control root and from 31.7 to 58.4 mg kg⁻¹ in stressed root samples (Table 2).

Table 2. Root macro (%) and micronutrient (mg kg⁻¹) concentrations of wheat under salinity stress condition and control

	(Ca)		(Mg)		(Na)		(K)	
	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress
AU5924	0.212	0.145	0.211	0.021	0.986	3.156	5.618	1.467
AU5907	0.270	0.137	0.174	0.018	1.012	3.307	5.620	1.079
Bayraktar 2000	0.218	0.082	0.144	0.025	0.543	2.265	4.910	1.103
(mg kg ⁻¹)	(B)		(Cu)		(Fe)		(Zn)	
	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress	Control	Stress
AU5924	2.97	0.44	111.6	36.8	583.2	1002.8	190.3	58.4
AU5907	3.51	1.06	98.3	34.6	963.7	995.6	289.4	51.0
Bayraktar 2000	2.47	0.93	61.0	30.4	494.4	1122.7	106.5	31.7

3.3. Proline contents of wheat seedlings against salt-stress

The changes in the proline contents related to the wheat seedlings are summarized in Table 3. These results showed that the application of salt stress increased the proline content by approximately 10-fold in the root samples collected from the line AU5924 and Bayraktar 2000 genotypes. In the line AU5907, this increase was limited to only 4.75 fold as compared to the control group (fold changes calculated from Table 3).

Table 3. Proline concentrations of wheat root and shoot samples under salinity stress condition and control (μmol g⁻¹ Fresh Weight)

	Roots		Shoot	
	Control	200 mM stress	Control	200 mM stress
AU5924	0.03	0.32	0.03	2.26
AU5907	0.04	0.19	0.04	0.84
Bayraktar 2000	0.03	0.31	0.05	1.55

Compared to root samples, the proline contents of wheat shoot samples differed. The highest increase was observed in the line AU5924 leaves with 75 fold more than compared to the control shoot samples. The next highest increase was observed in the Bayraktar 2000 leaves with approximately 31-fold more increased value as compared to the control leaf sample. Finally, the lowest amount of proline increase occurred in the line the AU5907 shoots with a 21-fold increase, as compared to control samples (fold changes calculated from Table 3).

4. Discussion

In the present study, salinity stress led to an ion imbalance in the composition of macro and micronutrients of wheat seedlings. Salinity also reduced adversely the physiological growth in early wheat seedlings. Several studies have reported a decrease in physiological parameters under salt stress including, cereal crop species. For example, *HvHKT1;5* gene containing *Hordeum vulgare* haplotypes (group B) and sensitive genotypes were compared in terms of salt stress (200 mM NaCl) induced decrease in plant and shoot dry weight (van Bezouw et al. 2019). Another similarity between the study of Van Bezouw et al. (2019) and the given is that it did not cause any decrease in the root dry weight in the line AU5907 and the *HvHKT* gene containing *Hordeum vulgare* genotypes. However, significant differences were observed in the shoot (Na⁺), (K⁺), (Na⁺/K⁺) contents within the salt treatment and control groups of *Hordeum vulgare*. Khan et al. (2019) reported reduced root length, root and shoot fresh weights, and shoot and root dry weights in some common wheat seedlings under salt stress. Several other studies have tried to find the resistance level of selected genotypes against salinity stress and have reported reduced physiological growth as a response to salt stress. These include studies conducted in boron and salinity treatment in common wheat (Naz et al., 2018), silicon treatment responses against salinity stress in common wheat (Sienkiewicz-Cholewa et al., 2018), and physiologic and mineral nutrition responses of *Gossypium hirsutum* genotypes to salt stress.

Munns and James (2003) stated that root and leaf elongation rates are the key parameters of early (two-week-old seedlings under controlled conditions) detection of salinity tolerance in cereals, particularly wheat, besides the biomass and yield parameters. From the perspective of growth parameters, the order of decreasing plant heights (decreasing rate stated as percentages) was observed to be Bayraktar 2000 > AU5907 > AU5924, whereas the order of decreasing root lengths (decreasing rate stated as %) was found to be AU5924 > AU5907 > Bayraktar 2000. The osmotic imbalance (water deficit plant tissue) within the stressed plants (Munns and James, 2003; van Bezouw et al., 2019) owing to impaired water absorption resulted in fluctuating fresh weights of wheat seedlings under normal and stress conditions. The number, growth, and size of levels depend on several factors such as phyllochron, plastochron, polarity, blade size, leaf orientation and angle, and genetics (Shaaf et al., 2019). These factors affect the above-ground biomass production of plants and are controlled by the stability of the genetic structure (cultivar and breeding line differences). Fresh weights of wheat seedlings may be insufficient to explain the difference between the genotypes with salt resistance. However, it provides general anticipation related to the resistance status of evaluated genotypes. As seen in Table 4, the best recovering rate in terms of plant fresh weight contents under salt stress was observed in the line AU5907. This line also exhibited the best performance against 200 mM salinity stress in terms of dry matter, concerning both roots dry and shoot dry weight contents. Munns et al. (2012) tested the Tamaroi lines introgressed with *TmHKT1;5-A* and reported the yield increase under salinity stress under field conditions. Similar supportive studies were conducted in wheat and close relative species were published; these were related to the superior performance of *HKT* gene introgressed lines under both field and *in vitro* conditions (Rahnema et al., 2011; James et al., 2012; Kobayashi et al. 2017; Tounsi et al., 2017). Similar to our study, these studies, clearly demonstrated that the lines expressing the *HKT* genes performed better than those not expressing these genes under salt stress conditions under both fields and *in vitro* conditions.

Based on the calculations given in Table 1, the calculated rates of (Na) entrance in the shoot are in the order of the Bayraktar 2000 > the line AU5924 > the line AU5907. This implies that 27.9 fold more (Na) is taken into the shoots in the Bayraktar 2000 in comparison to the control samples, whereas 14.5 fold more (Na) is transferred to the shoots in the line 5907 in comparison to the control samples. James et al. (2006) reported that both *Nax1* and *Nax2* introgressed lines can restrict (Na) uploading from roots to shoots. In addition to this restriction function, *Nax1* also has the capability of retrieving the previously unloaded (Na) from the xylem tissue in durum wheat (James et al., 2006). The (Na) unloading from plant shoots stated by James et al. (2006) has been observed in the line *Nax1* introgressed 5907 under salinity stress conditions. These results are also supported by other studies, such as common wheat under salinity and waterlog conditions (James et al., 2011) and durum wheat under saline soil conditions (James et al., 2012).

Table 4. Salinity tolerance of hexaploid wheat cultivars and selections grown in control or salt treatment (200 mM NaCl) after 15 d

Genotypes	Shoot dry weight (g)		Salt tolerance (%) control
	Control	Salt Treatment	
AU5924	0.18	0.13	72.6
AU5907	0.14	0.14	96.6
Bayraktar 2000	0.31	0.23	73

Maintaining this strict (K^+/Na^+) balance at the cellular level during stress conditions is a major sign of tolerance against salinity as these ions play several physiological roles and K-dependent signal pathways (Isayenkov and Maathuis, 2019). Considering the (K) contents of wheat seedlings under salinity stress conditions, the highest decrease rate was observed in the line 5907 (0.824%), whereas the lowest decrease rate was observed in the line AU5924 (0.523%). The (K) capacity of Bayraktar 2000 unstressed plants was equivalent to that of the line AU5907 within the stressed plants. This implies that when we combine this situation with the absorption of less (Na) than others, it is observed that the best performing the genotype is line AU5907 under salt stress. That could be a possible explanation for the results shown in Tables 4–5. Table 4 shows the recovery rates of wheat seedlings under stress conditions and Table 5 provides (K^+/Na^+) under the same stress conditions. The (K^+/Na^+)

of line 5907 (1.48) in the given study validated with those of another study that demonstrated similar results during the salt stress-resistant genotype detection research (El-Hendawy et al., 2017). Tables 4–5 show that the line 5907 retained better recovery and (K^+/Na^+) than other compared genotypes.

Table 5. (Na^+) and (K^+) content in leaves of salt-treated wheat seedlings

Genotypes	(Na)	(K)	(K^+/Na^+)
5AU924	2.709	3.777	1.39
5907	2.553	3.800	1.48
Bayraktar 2000	2.180	3.178	1.45

The root and shoot proline values of wheat seedlings in the present study are summarized in Table 5. The proline contents preferably get accumulated at a considerably higher level in leaves rather than in roots to prevent photosynthetic activity and the turgid status of the cell under salinity stress (Silva-Ortega et al., 2008). Although the given results support this finding, the proline content in salt-resistance line 5907 appeared to be lower than in other compared genotypes. Several studies have reported the proline content of resistant genotypes under salt stress to be higher than that of sensitive genotypes (Dugasa et al., 2019; Ami et al., 2020). However, the proline level of resistant line 5907 did not exactly match with the explained situation. The low level of proline in the best-performing wheat (line 5907) could be attributed to the restricted transport of (Na) to shoots (13.4% less (Na) transport to shoots).

In general, stress conditions triggered the accumulation of proline and related low molecular type metabolites; however, certain other inconsistent correlation results have also been published in different plants (Bhaskara et al., 2012). For example, Kim et al. (2016) observed that another member of the Poaceae family, switchgrass (salt-tolerant ones among 46 *Panicum virgatum* lines), behaved as the line 5907 with a slight increase in the proline content under saline condition. A possible explanation could be that the down-regulation of *PDH* genes under the saline conditions strongly correlated with an extraordinary bidirectional balance with *P5CS* genes. Per et al. (2017) stated that the proline accumulation was related to the *PDH* gene rather than the *P5CS* gene, this slight increase is explained as mentioned above.

The correlation analysis was performed for shoot dry mass in the common wheat seedlings and the related parameters and results are presented in Table 6, which show a positive or negative relation between such parameters and dry mass. A strong correlation was found between the wheat shoot dry mass and the absorption rates of cations such as (Ca), (Mg), and (K) at a miliequivalent scale under salt stress. A moderate correlation was found between the (Ca/Na), (Mg/Na), and (K/Na) in the shoots of wheat seedlings under salt stress. The correlation analysis was also performed for the root dry mass of wheat seedlings and the related parameters are summarized in Table 7. Regarding shoots, a similarly strong correlation was found between the dry weight of the roots and the absorption of cations such as (K), (Ca), and (Mg) at the miliequivalent scale. The same moderate level of correlations was also detected in root dry matter of the wheat seedlings and (Ca/Na), (Mg/Na), (K/Na) at a 0.05 significance level. When the Mg contents for wheat seedlings were evaluated from this angle, the correlation between the root dry mass and mg contents at the miliequivalent scale appeared to be more significant. Moreover, the (Mg/Na) in the shoots of wheat seedlings seemed to be important for the continuity of photosynthesis. When the (Ca) values in the shoots of wheat seedlings were evaluated in this respect, the strong correlation of shoot dry mass and (Ca) as miliequivalent (particularly *Nax* introgressed lines) was found to be a possible explanation of better performance under saline conditions.

Table 6. Shoot dry mass (SDM), elemental concentrations (%) and miliequivalent (me) correlations (p<0.01 and p<0.05)

	SDM	(Ca%)	(Mg%)	(Na%)	(K%)	(Ca/Na)	(Mg/Na)	(K/Na)	(Proline)	(Ca#)	(Mg#)	(K#)
(Ca%)	0.371											
(Mg%)	-0.300	0.716**										
(Na%)	-0.461*	-0.933**	-0.615**									
(K%)	-0.315	0.653**	0.955**	-0.596**								
(Ca/Na)	0.649**	0.833**	0.401	-0.914**	0.423*							
(Mg/Na)	0.516**	0.864**	0.547**	-0.952**	0.561**	0.976**						
(K/Na)	0.571**	0.835**	0.473*	-0.933**	0.500*	0.989**	0.994**					
(Proline)	-0.351	-0.811**	-0.606**	0.885**	-0.622**	-0.808**	-0.848**	-0.828**				
(Came)	0.903**	0.705**	0.082	-0.732**	0.063	0.868**	0.771**	0.803**	-0.613**			
(Mgme)	0.894**	0.709**	0.145	-0.751**	0.111	0.862**	0.789**	0.811**	-0.647**	0.982**		
(Kme)	0.958**	0.578**	-0.038	-0.653**	-0.037	0.813**	0.712**	0.752**	-0.553**	0.974**	0.977**	
(Name)	-0.220	-0.873**	-0.711**	-0.901**	-0.705**	-0.863**	-0.907**	-0.886**	0.834**	-0.583**	-0.572**	-0.463*

#me 100g⁻¹ soil, *is Significant at p < 0.05, ** is significant at p < 0.01, SDM: Shoot dry matter.

Table 7. Root dry mass (RDM), elemental concentrations (%) and miliequivalent (me) correlations (p<0.01 and p<0.05)

	RDM	(Ca%)	(Mg%)	(Na%)	(K%)	(Ca/Na)	(Mg/Na)	(K/Na)	(Proline)	(Ca#)	(Mg#)	(K#)
(Ca%)	0.073											
(Mg%)	0.099	0.926**										
(Na%)	-0.500**	-0.547**	0.691**									
(K%)	0.196	0.973**	0.968**	-0.597**								
(Ca/Na)	0.450*	0.876**	0.920**	-0.817**	0.887**							
(Mg/Na)	0.422*	0.777**	0.922**	-0.825**	0.843**	0.954**						
(K/Na)	0.527**	0.871**	0.957**	-0.793**	0.922**	0.974**	0.981**					
(Proline)	-0.243	-0.721**	-0.791**	-0.792**	-0.744**	-	-0.848**	-0.844**				
						0.861**						
(Came)	0.716**	0.592**	0.586**	-0.813**	0.536**	0.759**	0.684**	0.672**	-0.789**			
(Mgme)	0.643**	0.597**	0.740**	-0.868**	0.650**	0.854**	0.887**	0.835**	-0.885**	0.839**		
(Kme)	0.742**	0.724**	0.803**	-0.872**	0.756**	0.906**	0.892**	0.881**	-0.899**	0.877**	0.972**	
(Name)	0.041	-0.786**	-0.866**	0.751**	-0.849**	-	-0.920**	-0.926**	0.824**	-0.678**	-0.882**	-0.905**
						0.917**						

me 100g⁻¹ soil, *is Significant at p < 0.05, ** is significant at p < 0.01, RDM: Root dry matter.

Table 8. SDM, proline and micronutrient correlations ($p < 0.01$ and $p < 0.05$)

	(SDM)	(Proline)	(B)	(Zn)	(Fe)
(Proline)	-0.351				
(B)	-0.136	-0.607**			
(Zn)	0.314	-0.774**	0.738**		
(Fe)	0.112	-0.588**	0.443*	0.738**	
(Cu)	0.046	0.738**	0.865**	0.880**	0.720**

*is Significant at $p < 0.05$, ** is significant at $p < 0.01$, RDM: Root dry matter, B: Boron, Zn: Zinc, Fe: Iron.

Table 9. RDM, proline and micronutrient correlations ($p < 0.01$ and $p < 0.05$)

	(RDM)	(Proline)	(B)	(Zn)	(F)
(Proline)	-0.243				
(B)	0.171	-0.911**			
(Zn)	-0.073	-0.748**	0.893**		
(Fe)	-0.310	0.691**	-0.550**	-0.293	
(Cu)	-0.137	-0.808**	0.905**	0.905**	-0.537**

*is significant at $p < 0.05$, ** is significant at $p < 0.01$, RDM: Root dry matter, B: Boron, Zn: Zinc, Fe: Iron.

As seen in Tables 8–9, there was no correlation between the micronutrients and the root and shoot dry weights of wheat seedlings under saline conditions. Some micronutrients appeared to have a positive or negative correlation among them. The proline contents of the evaluated wheat seedlings had a strongly negative or moderately negative correlation with all micronutrient contents. Under the salinity stress, the (Fe) contents (especially root samples have approximately two fold more Fe) of plants increased as compared with the control groups, for example in the emmer wheat (Sheng et al., 2019) and rice (*Oryza sativa*) (Irakoze et al., 2019). While the (Fe) accumulation was observed in the line of AU5924 and the Bayraktar 2000, it is interesting to see that the (Fe) accumulation did not occur in salt-resistant line 5907. In light of these findings, it would not be wrong to conclude that the (Fe) status of the line AU5907 was associated with the salt tolerance. As with the value of proline, the slight increase in the (Fe) content of stressed plants or an equal quantity of the (Fe) accumulation just like unstressed plants could be a sign of salt stress resistance in the present study.

4.1. Conclusion

In the current study, the responses against the salinity stress of certain selected wheat genotypes (two of them were extra salinity tolerant introgressed lines of Australian origin, and the other one was a well-adapted cultivar to the Central Anatolian conditions) were determined using the hydroponic system. The line AU5907 was found to be performing best among the examined genotypes. Parameters such as shoot dry mass, (Na) rates of shoots, proline contents, and (K/Na) were employed on experimentally grown plants to find the best performing line. Although the results were closely related, the *Nax* loci introgressed lines were found to be better than the compared cultivar (the Bayraktar 2000), while line AU5907 was at the forefront. The ultimate goal of the study was to compare *Nax*-introgressed Australian wheat lines and well-adapted cultivar in terms of their performance to salt stress in a controlled environment and field conditions. Consequently, locally well-adapted cultivars could be developed to cope with the salinity stress by enlarging their genetic background with extra tolerance loci, of which *Nax1* and *Nax2* (in this case) had great potential for wheat improvement programs owing to their easy tracking nature via related molecular markers. Therefore, these could be easily integrated into any marker-assisted selection programs.

Acknowledgments

- This manuscript has been written from a part of the master thesis entitled “Determination of the stress responses and mineral compositions of different wheat genotypes under salt treatment” published in the Council of Higher Education (Turkey) with the number 409905.

- Thank CSIRO for sending these wheat line seeds that have been used within the master thesis (409905) and within the scope of the TÜBİTAK project (Grant no: TOVAG 214O072).
- This work was supported by Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Grant no: TOVAG 214O072).

References

- Ami, K., Planchais, S., Cabassa, C., Guivarc'h, A., Very, A.A., Khelifi, M., Djebbar, R., Abrous-Belbachir, O., & Carol, P. (2020). Different proline responses of two Algerian durum wheat cultivars to *in vitro* salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(21), 1-16.
- Bhaskara, G.B., Nguyen, T.T., & Verslues, P.E. (2012). Unique drought resistance functions of the highly ABA-induced clade a protein phosphatase 2cs. *Plant Physiol*, 160(1), 379–395.
- Cirillo, V., Masin, R., Maggio, A., & Zanin, G. (2018). Crop–weed interactions in saline environments. *European Journal of Agronomy*, 99, 51–61.
- Dugasa, M.T., Cao, F., Ibrahim, W., & Wu, F. (2019). Differences in physiological and biochemical characteristics in response to single and combined drought and salinity stresses between wheat genotypes differing in salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, 165(2), 134–143.
- El-Hendawy, S.E., Hassan, W.M., Al-Suhaibani, N.A., Refay, Y., & Abdella, K.A. (2017). Comparative performance of multivariable agro-physiological parameters for detecting salt tolerance of wheat cultivars under simulated saline field growing conditions. *Front Plant Sci*, 8(435), 1-15.
- Ghosh, B., Ali, M.N., & Gantait, S. (2016). The response of rice under salinity stress: A review update. *Rice Research: Open Access*, 4(2,) 1-8.
- Hakki, E.E., Dograr, N., Pandey, A., Khan, M.K., Hamurcu, M., Kayis, S.A., Gezgin, S., Olmaz, F., & Akkaya, M.S. (2014). Molecular and Elemental Characterization of Selected Turkish Durum Wheat Varieties. *Notulae Botanicae*, 42(2) 431-439.
- Hamurcu, M., Demiral, T., Hakki, E.E., Turkmen Ö., Gezgin, S., & Bell, R.W. (2015). Oxidative stress responses in watermelon (*Citrullus lanatus*) as influenced by boron toxicity and drought. *Zemdirbyste*, 102 (2), 209–216.
- Irakoze, W., Vanpee, B., Rufyikiri, G., Dailly, H., Nijimbere, S., & Lutts, S. (2019). Comparative effects of chloride and sulfate salinities on two contrasting rice cultivars (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. *Journal of Plant Nutrition*, 42(9), 1001–1015.
- Isayenkov, S.V., & Maathuis, F.J.M. (2019). Plant Salinity Stress: Many unanswered questions remain. *Front Plant Sci*, 10(8), 1-11.
- James, R.A., Blake, C., Byrt, C.S., & Munns, R. (2011). Major genes for Na⁺ exclusion, *Nax1* and *Nax2* (wheat *HKT1;4* and *HKT1;5*), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *J Exp Bot*, 62(8), 2939–2947.
- James, R.A., Blake, C., Zwart, A.B., Hare, R.A., Rathjen, A.J., & Munns, R. (2012). Impact of ancestral wheat sodium exclusion genes *Nax1* and *Nax2* on grain yield of durum wheat on saline soils. *Functional Plant Biology*, 39(7), 609–618.
- James, R.A., Davenport, R.J., & Munns, R. (2006). Physiological characterization of two genes for Na⁺ exclusion in durum wheat, *Nax1* and *Nax2*. *Plant Physiol*, 142(4), 1537–1547.
- Khan, A., Shafi, M., Bakht, J., Khan, M., & Anwar, S. (2019). The response of wheat varieties to salinity stresses is ameliorated by seed priming. *Pak J Bot*, 51(6), 1969-1978.
- Kim, J., Liu, Y., Zhang, X., Zhao, B., & Childs, K.L. (2016). Analysis of salt-induced physiological and proline changes in 46 switchgrass (*Panicum virgatum*) lines indicates multiple response modes. *Plant Physiol Bioch*, 105, 203–212.
- Kobayashi, Yamaji, N., Yamamoto, H., Okubo, K., Ueno, H., Costa, A., Tanio, K., & Matsumura, H. (2017). *OsHKT1;5* mediates Na⁺ exclusion in the vasculature to protect leaf blades and reproductive tissues from salt toxicity in rice. *The Plant Journal*, 91(4), 657–670.
- Maathuis, F.J.M. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr Opin Plant Biol*, 12(3), 250–258.
- Munns, R., & James, R.A. (2003). Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*, 253(1), 201–218.

- Munns, R., James, R.A., Xu, B., Athman, A., Conn, S.J., Jordans, C., Byrt, C.S., Hare, R.A., & Tyerman, S.D. ve ark. (2012). Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. *Nature Biotechnology* 30(4), 360–364.
- Naz, T., Javaid, A., Anwar-ul-Haq, M., Saqib, M., & Shahid, M. (2018). Interaction of salinity and boron in wheat affects physiological attributes, growth and activity of antioxidant enzymes. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55, 339–347.
- Per, T.S., Khan, N.A., Reddy, P.S., Masood, A., Hasanuzzaman, M., Khan, M.I.R., & Anjum, N.A. (2017). Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. *Plant Physiol Bioch*, 115, 126–140.
- Rahnama, A., Munns, R., Poustini, K., & Watt, M. (2011). A screening method to identify genetic variation in root growth response to a salinity gradient. *J Exp Bot*, 62(1), 69–77.
- Rattan, R.K. (2015). Mineral nutrition of plants. In: Rattan, R.K., Katyal, J.C., Dwivedi, B.S., Sarkar, A.K., Bhattacharya, T., Tarafdar, J.C., Kukal, S.S. (eds) Soil science: an introduction. *Indian Soc Soil Sci, New Delhi*, pp. 499–539.
- Shaaf, S., Bretani, G., Biswas, A., Fontana, I.M., & Rossini, L. (2019). Genetics of barley tiller and leaf development. *J Integr Plant Biol*, 61(3), 226–256.
- Sheng, H., Zeng, J., Liu, Y., Wang, X., Wang, Y., Kang, H., Fan, X., Sha, L., Zhang, H., & Zhou, Y. (2019). Differential responses of two wheat varieties differing in salt tolerance to the combined stress of mn and salinity. *Journal of Plant Growth Regulation*, doi:10.1007/s00344-019-10023-0.
- Sienkiewicz-Cholewa, U., Sumińska, J., Sacała, E., Dziągwa-Becker, M., & Kieloch, R. (2018). Influence of silicon on spring wheat seedlings under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(3), 54-62.
- Silva-Ortega, C.O., Ochoa-Alfaro, A.E., Reyes-Aguero, J.A., Aguado-Santacruz, G.A., & Jimenez-Bremont, J.F. (2008). Salt stress increases the expression of the *p5cs* gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(1), 82–92.
- Singh, A. (2010). Decision support for on-farm water management and long-term agricultural sustainability in a semi-arid region of India. *Journal of Hydrology*, 391(1), 63–76.
- Tounsi, S., Feki, K., Hmidi, D., Masmoudi, K., & Brini, F. (2017). Salt stress reveals differential physiological, biochemical and molecular responses in *T. monococcum* and *T. durum* wheat genotypes. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(3), (pp. 517–528).
- Valipour, M. (2014). Drainage, waterlogging, and salinity. *Archives of Agronomy and Soil Science* 60(12), 1625–1640.
- Van Bezouw, R., Janssen, E.M., Ashrafuzzaman, M., Ghahramanzadeh, R., Kilian, B., Graner, A., & Visser, R. G. F. (2019). Shoot sodium exclusion in salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) is determined by allele-specific increased expression of HKT1;5. *J Plant Physiol*, 241, 153029.
- Wang, J., Vanga, S.K., Saxena, R., Orsat, V., & Raghavan, V. (2018). Effect of climate change on the yield of cereal crops: A Review. *Climate*, 6(2), 41-60.
- Zörb, C., Geilfus, C.M., & Dietz, K.J. (2019). Salinity and crop yield. *Plant Biology* 21, 31–38.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Kuşburnunda (*Rosa canina* L.) Tohum Çıkışı ve Çöğür Gelişimi Üzerine Farklı Katlama Ortamlarının ve Sıcaklık Uygulamalarının Etkisi

Selma BOYACI^{*1}, Bahadır ALTUN², Ahmet KAZANKAYA³

^{1,2,3}Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 40100, Kırşehir, Türkiye
¹<https://orcid.org/0000-0002-3349-839X> ²<https://orcid.org/0000-0002-6503-7109> ³<https://orcid.org/0000-0002-1081-4281>

*Sorumlu yazar e-posta: selma.boyaci@ahievran.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 25.12.2020
Kabul: 24.05.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.846822

Anahtar kelimeler

Katlama,
Ön işlem,
Rosa spp.

Öz: Bu çalışmada, kuşburnu tohumlarının çimlenme oranı ve çöğür gelişimi üzerine farklı katlama ortamlarının (kum, torf, vermikülit ve vermikompost) ve sıcaklık uygulamalarının (ılık + soğuk) etkisi araştırılmıştır. Çalışma; Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne ait laboratuvarında ve seralarda, 2019 yılında 28 hafta süreyle katlamaya alınan tohumların 2020 yılında çıkışlarının incelenmesiyle yürütülmüştür. Kuşburnu tohumlarına, kum, torf, vermikülit ve vermikompost ortamlarında 14 hafta 22°C’de ılık katlama + 14 hafta 4°C’de soğuk katlama yapılmış, katlama sonucunda tohumlar serada viyollere ekilmiştir. Torf ve vermikompost ortamında çıkış meydana gelmemiş, kum ve vermikülit ortamlarında ise çıkış oranları sırasıyla % 2.5 ve % 11.75 olarak gerçekleşmiştir. Çıkış yapan fideler 5 cm büyüklüğe ulaşıncaya saksılara alınmış, vegetasyon periyodunun sonunda kuşburnu çöğürlerinde; taç büyüklüğü, kök boğazı çapı, gövde sayısı, gövde uzunluğu ve çapı, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve çapı, kök uzunluğu, kök kuru ve yaş ağırlığı, gövde kuru ve yaş ağırlığı olmak üzere farklı morfolojik özellikler belirlenmiştir. Çalışma sonunda kuşburnu (*Rosa canina* L.) tohumlarında, 14 haftalık ılık katlama + 14 haftalık soğuk katlama süresinin yetersiz kaldığı, bu nedenle hem kısa süreli katlama hem de uzun süreli katlama uygulamalarında yalnızca katlama ortamı ve sıcaklığın tek başına yeterli olmadığı kanaatine varılmıştır.

The Effect of Different Stratification Media and Temperature Applications on Seed Germination and Seedling Growing in Rosehip (*Rosa canina* L.)

Article Info

Received: 25.12.2020
Accepted: 24.05.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.846822

Keywords

Stratification,
Pretreatment,
Rosa spp.

Abstract: In this study, the effects of different stratification media (sand, peat, vermiculite and vermicompost) and different temperature degrees (warm + cold) on the germination rate and seedling growth of rosehip seeds were investigated. This study was carried out in the laboratory and greenhouses of Kırşehir Ahi Evran University Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, by investigating the germination of seeds in 2020, which were stratified for 28 weeks in 2019. Rosehip seeds were stratified in sand, peat, vermiculite and vermicompost for 14 weeks at 22°C + cold stratification at 4 °C for 14 weeks, and at the end of the folding period, the seeds were seeded in viols in the greenhouse. There was no emergence in peat and vermicompost, and the emergence rates in sand and vermiculite were 2.5 % and 11.75 %, respectively. When the emerging seedlings reached a size of 5 cm, they were taken into pots. At the end of the vegetation period, in rosehip seedlings, different morphological characteristics were determined including crown size, root collar diameter, stem number, stem

length and diameter, shoot number, shoot length and diameter, root length, root dry and wet weight, stem dry and wet weight. At the end of the study, it was concluded that 14-week warm stratification + 14-week cold stratification was insufficient in rosehip (*Rosa canina* L.) seeds, therefore, only the stratification and temperature were not sufficient for both short-term stratification and long-term stratification.

1. Giriş

Rosaceae familyasının *Rosa* cinsine dahil olan kuşburnu (*Rosa canina* L.), vadilerde yol kenarlarında bahçe sınırlarında doğal olarak yetişen çok yıllık çalı formunda bir bitkidir (Bilgener ve ark., 1996). Bugüne kadar dünyada yaklaşık 200 civarında kuşburnu cinsi tanımlanmış olup, üçü endemik olmak üzere, 35 tür Türkiye florasında doğal olarak yayılış göstermektedir (Aslan, 2012; Riek ve ark., 2013). Türkiye kuşburnunun gen merkezlerinden biri olup, son yıllarda gerek beslenme gerekse tıbbi amaçlı kullanımı gün geçtikçe artan, önemli ölçüde ekonomik değer kazanmış bir meyve türüdür (Doğan ve Kazankaya, 2006). Sadece besin veya tıbbi amaçlı olarak değerlendirilmeyen kuşburnu, aynı zamanda peyzaj düzenlemelerinde ve kesme gül yetiştiriciliğinde anaç olarak da kullanılmaktadır. Yaz aylarında açan renkli çiçekleri (pembe, açık kırmızı, açık sarı ve beyaz), sonbahar aylarında olgunlaşan parlak kırmızı meyveleriyle estetik ve fonksiyonel olarak tekli ya da gruplar halinde peyzaj düzenlemelerinde kullanılır (Koçan, 2010). Günümüzde dünyada ve ülkemizde meyve tüketicileri, meyveyi sadece tatları için değil aynı zamanda besin içeriği yönünden de dikkate alarak tüketmektedirler (Boyacı ve Yılmaz, 2020). Dolayısıyla, kuşburnu zengin vitamin ve mineral içeriği ile son zamanların gözde meyveleri arasında bulunmaktadır.

Bir türün yetiştiriciliğinin yapılabilmesi için öncelikle o türün çoğaltma yeteneğinin bilinmesi gerekmektedir. Kuşburnu, generatif ve farklı vegetatif yöntemlerle (çelik, doku kültürü ve daldırma) çoğaltılabilmektedir (Orhan, 2001). Kuşburnunun tohumla çoğaltılmasında meyve ve bitki özellikleri bakımından türlere göre farklılıklar bulunmaktadır. Türler içerisinde en fazla açılım *Rosa dumalis* ve *Rosa villosa*; en az açılım ise *Rosa rubiginosa* ve *Rosa canina* türlerinde görülmektedir. Çok az açılım gösteren *Rosa rubiginosa* ve *Rosa canina* türleri tohumla çoğaltılır (Nybom ve Carlson, 1992). Ancak, tohumla çoğaltma kolay olmakla birlikte birçok sorunları da olan teknik bir işlemdir (Kaşka ve Yılmaz, 1990). Özellikle *Rosaceae* familyasına ait olan türlerin tohumları bazı ön işlemlerden geçmedikçe genellikle çimlenemezler ya da çok düşük oranlarda çimlenirler (Kaşka, 1970). Genel olarak birçok meyve türünün olgunlaşmış sağlam tohumlarının tüm koşullar (çevre koşulları) optimum olmasına rağmen çimlenememesine tohum bünyesindeki dormansi neden olmaktadır (Çetinbaş ve Koyuncu, 2005). Bu nedenle, ekim öncesinde yapılacak bazı ön işlemlerle (katlama, suda ıslatma, hormon uygulaması, çıtlatma vb.) dormansi engelini ortadan kaldırılması gerekir. Kuşburnu tohumlarının sert geçirimsiz dış kabuğundan dolayı çok zor çimlenmesi, bu ön uygulamaların sadece birisi ya da kombinasyonun yeterli olmayabileceği pek çok çalışma sonucunda raporlanmıştır (Foster ve Wright, 1983; Tansı ve ark., 1996; Ercişli, 2000; Belletti ve ark., 2003; Hoşafcı ve ark., 2005, Anderson ve Byrne, 2007).

Bu ön uygulamalardan katlama, sıcak ve soğuk olarak yapıldığında dormansiyi kıran etkili bir yöntemdir (Zhou ve ark., 2009). Orhan (2001), *Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *antalyensis*, *Rosa dumalis* subsp. *boissieri* var. *boissieri* ve *Rosa canina* türleriyle yaptığı çalışmada, farklı sürelerde sıcak katlama (20°C ve 25°C) + soğuk katlama (4°C) uygulamalarının, soğuk katlama + asitle (H₂SO₄) aşındırmaya göre daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Alp ve ark., (2009) *Rosa canina*, *R. pulverelanta* ve *R. dumalis* türlerinde 25°C'de 11, 12, 13 hafta sıcak katlama, daha sonra 1, 3 hafta 5°C soğuk katlama yaptığı çalışmasında, genel çimlenme yüzdesini *R. canina*, % 18,80, *R. pulverelanta*'da % 13,80 ve *R. dumalis*'te % 13,53 olarak belirlemişler, bu üç takson için en uygun yöntemin 11 hafta sıcak ve soğuk katlama olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *Rosa* türlerinde genetik özelliklerinden dolayı çimlenmenin çok zor olduğunu, sıcak + soğuk katlamanın dormansinin kırılmasında etkili bir çimlenme yöntemi olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kuşburnu tohumlarının farklı katlama ortamları (kum, torf, vermikülit ve vermikompost), farklı katlama (ılık+soğuk) sıcaklıklarında, tohumlarda çıkış oranları ve çöğür gelişimi incelenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne ait laboratuvarında ve serada yürütülmüştür. Araştırmada, 2019 yılında 14 hafta süreyle katlamaya alınan tohumların 2020 yılında çıkışları incelenmiştir. Çalışmanın materyalini Kırşehir’de doğal yayılış gösteren kuşburnu (*Rosa canina*) bitkilerinden olgun dönemde hasat edilen meyvelerin tohumları oluşturmuştur. Kuşburnu meyvelerinden tohumlar çıkartılarak temizlenmiş, yıkanmış ve uygulama zamanına kadar laboratuvarında muhafaza edilmiştir. Dormansinin kırılması amacıyla kuşburnu tohumları; kum, torf, vermikülit ve vermikompost olmak üzere dört farklı ortamda, 1 kg’lık plastik kaplara (20.60 x 11.20 x 6.90 cm) yaklaşık 1 cm derinliğinde katlamaya alınmıştır. Tohumlar daha sonra, 22±1°C’de 14 hafta süre ılık ve nemli katlama, daha sonra +4°C’de 14 hafta süreyle soğuk ve nemli katlamaya tabi tutulmuştur. 13 Aralık 2019 tarihinde deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak, her tekerrürde 100 tohum olmak üzere toplamda 1600 tohum kullanılarak kurulmuştur. Katlama süresinde farklı katlama ortamlarının nem durumları düzenli olarak kontrol edilerek ortamların nemli kalması sağlanmıştır.

Katlamadan çıkarılan tohumlar 6 Temmuz 2020 tarihinde kontrollü sera koşullarında torf ortamına ekilmişlerdir. Düzenli olarak kontrolleri yapılan bitkilerin çıkış oranları günlük olarak kaydedilmiştir. 5 cm büyüklüğüne ulaşan çöğürler; 27 Ağustos 2020 tarihinde 2 kısım toprak + 2 kısım torf + 1 kısım perlitten hazırlanmış saksılara şaşırtılarak büyümeleri gözlenmiştir. 28 Kasım 2020 tarihinde Kuşburnu bitkilerinde; taç büyüklüğü, kök boğazı çapı, gövde sayısı, gövde uzunluğu ve çapı, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve çapı, kök uzunluğu, kök kuru ve yaş ağırlığı, gövde kuru ve yaş ağırlığı olmak üzere farklı morfolojik özellikleri belirlenmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen veriler, tesadüf parselleri deneme desenine göre SPSS 22.0 istatistiksel paket programı kullanılarak varyans analizlerine tabi tutulmuş; ortalamalar arasındaki farklılıklar, Duncan çoklu karşılaştırma testi ile kontrol edilmiştir (Yurtsever, 1984).

3. Bulgular

Kuşburnu tohumlarında dormansinin kırılmasına yönelik olarak; kum, torf, vermikülit ve vermikompost ortamlarında 14 hafta ılık katlama ve 14 hafta soğuk katlamadan çıkan tohumlar sera koşullarında torf ortamına ekilmiştir. Ekim sırasında, özellikle vermikülit ortamında katlamaya alınan tohumların çitlama oranlarının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Tohum kabuğunun incelmelerinden ziyade kabukta çitlama olduğu belirlenmiştir. Kum ortamında da vermikülit kadar olmasa da az miktarda çitlama olduğu gözlenmiştir. Vermikompost ve torf ortamında bulunan tohumlarda çitlamaya rastlanılmamıştır. Vermikompostta tohumların renginin koyulaştığı, torfta grileştiği kum ve vermikülitte tohum renginin orijinal rengine yakın bir renkte kaldığı saptanmıştır. Serada torf ortamında viyollere ekilen tohumların düzenli olarak bakım işleri yapılarak günlük gözlemler kaydedilmiştir. 6 Temmuz 2020 tarihinde viyollere ekilen kuşburnu tohumlarında 1 hafta içinde çıkışlar gözlenmiştir. Ekilen tohumların çıkış oranları Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Kuşburnu tohumlarının çıkış oranları

Uygulama	Çıkış oranı (%)
Kum	2.5b ±1.04
Vermikompost	0 ±0.00
Torf	0 ±0.00
Vermikülit	11.75a±5.48

Vermikompost ve torf ortamında soğuklaması karşılanan tohumlarda çimlenme meydana gelmemiştir. Kum ortamında katlanan tohumların çıkış oranı % 2.5, vermikülit ortamında katlanan tohumların çıkış oranı % 11.75 olarak gerçekleşmiştir.

Çalışmada sadece kum ve vermikülit ortamında katlanan tohumlardan çıkış meydana gelmiştir. Elde edilen çöğürlerin düzenli bakım işleri yerine getirilerek büyümeleri gözlenmiştir. Viyollerde 5 cm büyüklüğüne ulaşan kuşburnu çöğürleri saksılara şaşırtılmış, vejetasyon periyodunun sonunda bunlar üzerinde Çizelge 2’de verilen morfolojik ölçümler yapılmıştır.

Çizelge 2. Kuşburnu çöğürlerinde yapılan morfolojik ölçümler

Morfolojik Özellikler	Kum	Vermikülit
Taç yüksekliği (cm)	37.98 ± 1.62	35.85±4.81
Gövde yüksekliği (cm)	33.12 ± 1.66	31.64±3.33
Kök boğazı çapı (mm)	4.56 ± 0.14	4.44 ± 0.26
Gövde çapı (mm)	2.22±0.10	2.19±0.09
Gövde sayısı (adet)	1.23±0.12	1.77±0.23
Sürgün sayısı (adet)	1.33±0.09a	0.36±0.15b
Sürgün boyu (cm)	15.05±1.88a	3.19±1.44b
Sürgün çapı (mm)	1.43±0.17a	0.35±0.15b
Kök boyu (cm)	30.67±0.88	31.57±2.03
Gövde yaş ağırlığı (gr)	2.91±0.25	2.48±0.34
Gövde kuru ağırlığı (gr)	5.77±0.50	5.25±0.70
Kök yaş ağırlığı (gr)	5.98±0.14	5.92±0.79
Kök kuru ağırlığı (gr)	13.97±0.50	12.39±0.82

Farklı harfler arasındaki fark p<0.01 düzeyinde çok önemlidir.

Yapılan morfolojik gözlemlerde, taç yüksekliği, gövde yüksekliği, gövde çapı, gövde sayısı, kök boğazı çapı, kök boyu, gövde yaş ve kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlığı değerleri arasındaki farklar istatistiki bakımdan önemsiz bulunmuştur. Sürgün sayısı bakımından; uygulamalardan kumda katlanan tohumların sürgün sayısı 1.33 adet iken, vermikülitte katlanan tohumların sürgün sayısı 0.36 adet olarak belirlenmiş, bu ortalamalar arasındaki fark ise istatistiki bakımından önemli bulunmuştur. Sürgün boyu kum ortamında katlanan tohumlarda 15.05 cm ile en yüksek değeri verirken, vermikülitte katlanan tohumlarda 3.19 cm ile en düşük değer tespit edilmiştir. Sürgün çapı bakımından; uygulamalar arasındaki fark ta istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Sürgün çapı kum ortamında katlanan tohumlarda 1.43 mm ile en yüksek, vermikülit ortamında katlanan tohumlarda 0.35 mm olarak saptanmıştır.

4. Tartışma ve Sonuç

Araştırmada; vermikompost ve torf ortamında katlanan tohumlarda çimlenme gerçekleşmiştir. Buna karşın, kum ortamında katlanan tohumların çıkış oranı % 2.5, vermikülit ortamında katlanan tohumların çıkış oranı % 11.75 olarak belirlenmiştir. Kaminski (1983), Polonya'da farklı *Rosa canina* tiplerini kullanarak yaptığı çalışmada, 4°C'de 180 gün katlama sonucunu % 0.5; 90 gün 20°C + 90 gün 4°C'de katlama sonucunu % 11.7; 180 gün 4°C + 300 gün -1°C'de katlama sonucunu % 80.5; 90 gün 20°C + 90 gün 4°C + 300 gün -1°C'de katlama sonucunu % 74 olarak bulmuştur. Benzer şekilde Werlemark ve ark., (1995) bazı kuşburnu türlerinde farklı katlama sıcaklığı uygulamaları yaptığı çalışmasında, 12 hafta 20°C'de ve 5°C'de tutulan kuşburnu tohumlarının çimlenme oranını % 9.7, 24 hafta 5°C de tutulan tohumların çimlenme oranını da % 0.8 olarak belirlemişlerdir. Orhan (2001), perlit ortamında yaptığı çalışmada çimlenme oranlarını; birinci yılda 20°C'de 1 ay + 4°C'de 4 ay katlamada % 1.94, 20°C'de 2 ay + 4°C'de 4 ay katlamada % 2.08 ve 20°C'de 3 ay + 4°C'de 4 ay katlamasından % 3.89 olarak belirlemişler, ayrıca 25°C'de 1 ay + 4°C'de 4 ay katlamadan % 0.56, 25°C'de 2 ay + 4°C'de 4 ay katlamasından % 3,89 ve 25°C'de 3 ay +4°C'de 4 ay katlamasından % 4.86 çimlenme oranları elde etmişlerdir. Araştırmacılar; katlama süresinin arttıkça çimlenme oranlarında da artış olduğunu bildirmişlerdir.

Kuşburnu tohumları sert ve geçirimsiz bir perikarp tabakasıyla çevrilidir. Bu tabaka tohumun su emilimini ve hava geçirgenliğini engelleyerek, embriyonun genişlemesine fiziksel bir engel oluşturur (Werlemark ve ark., 1995; Meyer, 2008). Ayrıca kuşburnu tohumlarının bünyesinde yüksek oranda bulunan absisik asit çimlenme için bir inhibitör görevi üstlenmektedir (Hartmann ve ark., 2002). Belirtilen bu nedenlerden dolayı kuşburnu tohumlarının çimlenmesi zordur. Kuşburnu tohumlarında dormansiye kırmak için en yaygın kullanılan yöntem katlamadır (Zlesak, 2007). Daha önce farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalara ek olarak farklı ortam ve farklı katlama sıcaklıkları denenerek yapılan bu araştırmada, vermikülit ortamında katlanan tohumların; Kaminski (1983), tarafından yapılan 4°C de 180 gün katlama, 90 gün 20°C ve 90 gün 4°C de katlanmasında, Werlemark ve ark., (1995) 12 hafta 20°C'de ve 12 hafta 5°C'de, 24 hafta 5°C deki uygulamaları ile

Orhan (2001)'ın perlit ortamında farklı katlama sıcaklık kombinasyonları ile ilgili uygulamalarının tamamından daha iyi sonuçlar elde edilirken, kum ortamında ise Kaminski (1983), 4°C de 180 gün, Werlemark ve ark. (1995) 24 hafta 5°C de katlamaya tabi tutulan tohumlara göre, daha yüksek veriler elde edilmiştir.

Kuşburnu tohumlarında dormansiyi kırmak için uygulanan ön işlemlere dair çalışmalar da mevcuttur. Ancak çıkıştan sonra çöğür özelliklerinin incelendiği araştırmalara rastlanılmamıştır. Her ne kadar yapılan bu çalışmada düşük çıkış oranları elde edilmiş olsa da, çalışma, morfolojik özelliklerinin incelenmesi açısından da farklı bir bakış açısı oluşturmuştur. Ancak farklı türlerde tohumlara uygulanan ön işlemlerden sonra çöğür gelişiminin takip edildiği araştırmalar mevcuttur. Yaşın ve Gübbük (2005), yabancı keçiboynuzu tohumlarına yapılan bazı ön işlemlerin tohum çimlenme oranı ve süresi ile çöğür gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri bir araştırmada, ekim öncesinde kontrol, + 4 °C'de 80 ve 100 gün muhafaza, + 4 °C'de 80 ve 100 gün kumda katlama, + 4 °C'de 80 ve 100 gün perlitte katlama, 40 °C'de sıcak suda 2 saat bekletme, 18 ± 2 °C suda 2 gün bekletme uygulamaları yapmışlardır. Tohum çimlenme oranının % 44.62 ile % 77.80 ve çimlenme süresinin ise 6.61 ile 13.09 gün arasında değiştiğini, bitki boyu ve gövde çapının + 4°C'de 100 gün bekletilen tohumlarda diğer uygulamalardan daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Rahemi ve ark. (2009), bazı yabancı badem türlerinin tohum çimlenmesi ve fidan üretimi ilgili yaptıkları çalışmada, yabancı badem tohumları 24 saatte 4 farklı gibberelik asit (GA₃) (0, 250, 500 ve 750 ppm) dozlarında nemli perlitte 5 ± 0.5 °C'de ve karanlık koşullarda 8 hafta katlamaya alınmış, sonunda çimlenme hızı, çimlenme yüzdesi, canlılık ve kök uzunluğunun farklı olduğu, hormon uygulamasının etkinliğinin olmadığı belirlenmiştir. İkinci uygulamada ise farklı altı yabancı badem çeşidi tohumlarının çimlenme yeteneklerini karşılaştırmışlar, çimlenme yüzdesi, canlılık indeksi ve kök uzunluğuna ait ortalama değerler arasındaki farklılıkları istatistiki anlamda önemli olduğu belirtilmiştir. Ertan ve Alkan (2015), farklı ortamların kestane çimlenme ve çöğürlerinin büyüme ve gelişme performansı üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında; perlit, torf, vermikülit, pomza (kaba), klinoptilolit, kum (ince) ve toprak ortamları kullanmışlar, vermikülit ve torf ortamlarının kestane çöğürlerinde çimlenme oranı ve gelişme performansının artmasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Kuşburnu son yıllarda hem tıbbi amaçlı hem de besin yönünden kullanımı artan geleceği parlak meyve türlerinden biridir. Artan talebin karşılanabilmesi ve ihracat imkânlarının gelişmesi açısından, sadece doğadan toplama şeklinde ürün elde etmenin yanı sıra, kapama bahçeler kurulması amacıyla fidan talebi fazla olan bir türdür. Bu bağlamda kuşburnunda *Rosa canina* türleri genetik yönden az açılım gösterdiği için tohumla çoğaltma tercih edilmektedir. Sert geçirimsiz bir tohum kabuğuna sahip kuşburnu türünün, uygun ön işlemler belirlenerek çoğaltılması önemli bir ihtiyaçtır. Kuşburnu tohumlarında dormansiyi kırmak için en yaygın yöntemin katlama olduğu (Zlesak, 2007) ve bu katlama süresinin türlere göre değişebileceği bildirilmiştir (Werlemark ve ark., 1995; Alp ve ark., 2009) Ayrıca Orhan (2001), kuşburnu tohumlarında katlama süresi arttıkça çimlenme oranlarında da artış olduğunu belirlemiştir. Hajian ve Khosh-Khui, (2000); *Rosa damascena* tohumlarında dormansiyi kırmak için 150 günden daha uzun bir katlama süresine ihtiyaç duyulduğu, ilaveten tohumların % 70-80 sülfürik asit içinde 10 dakika bekletilmesiyle çimlenme yüzdesinin % 80'in üzerine çıkarılabileceğini belirtmişlerdir.

Araştırma sonuçlarına göre; katlama süresinin kısa tutulduğu durumlarda çıkış yüzdesinin çok düşük olduğu bu nedenle hem kısa süreli katlama hem de uzun süreli katlama uygulamalarında yalnızca katlama ortamı ve sıcaklığın tek başına yeterli olmadığı, özellikle kısa süreli katlama uygulamalarında büyüme düzenleyici kullanımının gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

Kaynakça

- Alp, Ş., Çelik, F., Türkoğlu, N., & Karagöz, S. (2009). The effects of different warm stratification periods on the seed germination of some *Rosa taxa*. *Afr. J. Biotechnol.* 8(21), 5838-5841.
- Anderson, N., & Byrne, D.H. (2007). Methods for rosa germination. *Acta. Hortic.* 751, 503-507.
- Aslan, S. (2012). *Rosa*, Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M.T. (edlr.), *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı bitkiler)*, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Belletti, P., Cullum, J., Gorian, F., Monteleone, I., & Piotta, B. (2003). The use of a compost activator to overcome seed dormancy in *Rosa canina* L., In L. Ciccarese, S. Lucci, & A. Mattsson

- (Eds.), *Nursery production and stand establishment of broad-leaves to promote sustainable forest management*. (pp. 17-20) Atti 5/2003, APAT.Rome, İtaly
- Bilgener, Ş., Karaduva, L., Ceyhan, V., & Demirsoy, H. (1996). *Samsun İlinin Kuşburnu Potansiyeli ve Kuşburnu Toplayan Çiftçilerin Sosyo-Ekonomik Özellikleri*. Kuşburnu Sempozyumu Bildiriler Kitabı. 5-6 Eylül 1996, Gümüşhane.
- Boyacı, S., & Yılmaz, V. (2020). Effects of some pretreatments on the germination ratio of jujube (*Ziziphus* spp.) seeds. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(06), 4175-4180.
- Çetinbaş, M., & Koyuncu, F. (2005) Effects of cold-stratification and seed coat on breaking of mazzard (*Prunus avium* l.) seed dormancy. *Mediterranean Agricultural Sciences*. 18(3), 417-423.
- Doğan, A., & Kazankaya, A. (2006). Fruit properties of rose hip species grown in lake Van basin (Eastem Anatolia Region). *Asian Journal of Plant Sciences* 5 (1), 120-122.
- Ercişli, S. (2000). *Farklı uygulamaların kuşburnu tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi*. II. Ulusal Fidancılık Sempozyumu, 25-29, Eylül, İzmir
- Ertan, E., & Alkan, G. (2015). Sert kabuklu meyve türleri tohumlarında çimlenme sonrası kök kesimi uygulamasının çöğür gelişimi üzerine etkisi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(1), 49-56.
- Foster, T.C., & Wright, C.J. (1983). The germination of *Rosa dometorum* "Laxa" *Scientific Hort.* 34, 116-125
- Hajian, S., & Khosh-Khui, M. (2000). Investigation on sexual and asexual propagation methods of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.). *Iran Agric. Res.* 19(1), 1-16
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T., & Geneve, R.L. (2002). *Plant Propagation, Principles and Practices*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Hosafci, H., Arslan, N., & Sarihan, E.O. (2005). Propagation of dogroses (*Rosa canina* L.) by seed. *Acta Hort.* 690, 159-164.
- Kaşka, N. (1970). *Zerdali ve Kütahya Vişnesi Çekirdeklerinde Absisik Asit Miktarı ve Katlama Süresince Bu Miktarlarda Ortaya Çıkan Değişiklikler Üzerinde Araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 431.
- Kaşka, N. & Yılmaz, M. (1990) *Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği*, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 79, Adana/Türkiye
- Kaminski, W. (1983). Comparison of germination and emergence of seeds of several *Rosa canina* L. Types. *Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa Skierniewice, Poland. Hort. Abst.* 56(6), 4450.
- Koçan, N. (2010). Peyzaj planlama ve tasarım çalışmalarında kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitkisinin değerlendirilmesi. *HR.Ü.Z.F.Dergisi*, 14(4), 33-37.
- Meyer, S.E. (2008). *Rosa* L.:Rose, briar. In F.T. Bonner & R.P. Karrfalt (eds). *The Woody Plant Seed Manual Agric.* (pp. 974-980) USDA For. Serv. Agric. Handbook, 727.
- Nybm, H. & Carlson, U. (1992). Genetic variation in dogroses. *Sveriges Lantbruksuniversitet.* 69-85
- Orhan, E. (2001). *Farklı uygulamaların bazı kuşburnu türlerinde (Rosa spp.) tohum çimlenmesi üzerine etkileri*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Erzurum, Türkiye.
- Rahemi, A., Taghavi, T., Fatahi, R., Ebadi, A., Hassani, D., Chaparro, J., & Gradziel, T. (2011). Seed germination and seedling establishment of some wild almond species. *African Journal of Biotechnology*, 10(40), 7780-7786.
- Riek J.D., Cock, K.D., Smulders, M. J.M., & Nybm, H. (2013). AFLP-based population structure analysis as a means to validate the complex taxonomy of dogroses (*Rosa* section *caninae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 67, 547-559
- Tansı, L.S. Nacar, Ş, & Çulcu, A.A. (1996). *Kuşburnu (Rosa canina) Yetiştirme Olanakları*. Kuşburnu sempozyumu Bildiriler Kitabı. 5-6 Eylül Gümüşhane
- Werlemark, G., Carlson-Nilsson, U., Uggl, M., & Nybm, H. (1995). Effects of temperature treatments on seedling emergence in dogroses *Rosa Sect.caninae* (L.). *Acta Agric. Scand. Sect.B, Soil and Plant Sci.* 45, 278-282.
- Yaşın, D., & Gübbük, H., (2005). *Keçiboynuzu (Ceratonia siliqua) Tohumlarına Yapılan Bazı Ön Uygulamaların Tohumların Çimlenme Oranı ve Süresi ile Çöğür Gelişimi Üzerine Etkileri*. IV. GAP Tarım Kongresi, 2005, Urfa. s: 192-195.

- Yurtsever, N., (1984). *Deneyisel İstatistik Metotları*. Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları No: 121, Ankara.
- Zhou, Z.Q., Wei-Kai, B., & Ning, W. (2009). Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & E.H. Wilson. *Sci. Hortic.* 119, 434-441.
- Zlesak, D.C. (2007). Rose. *Rosa x Hybrida*. In: N.O. Anderson (ed.), *Flower Breeding and Genetics*, (pp. 695-740), Springer, Dordrecht, Netherlands



Araştırma Makalesi (Research Article)

Evaluation of Nutritional Status In Term of Selenium and Micro Nutrients of Maize Cultivation Lands in Sanliurfa Province

Aise DELIBORAN*¹, Abdullah Suat NACAR²

¹Olive Research Institute, Department of Soil and Water Management, Bornova, Izmir, Turkey

²GAP Agricultural Research Institute, Department of Soil and Water Management, Sanliurfa, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-0816-9535> ²<https://orcid.org/0000-0002-8372-7381>

*Sorumlu yazar e-posta: aisedeliboran@gmail.com

Article Info

Received: 13.05.2020

Accepted: 18.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.730026

Keywords

Maize,

Maize land,

Nutritional Status,

Sanliurfa,

Selenium.

Abstract: This study was conducted to determine the nutritional status of maize cultivated lands and maize plant in Sanliurfa province in term of selenium and micro elements. For this purpose, samples of soil and plants were taken from Sanliurfa province and Akcakale, Ceylanpinar, Harran and Viransehir districts. Texture, soil reaction, electrical conductivity, CaCO₃, organic matter, available selenium, exchangeable iron, zinc, copper, manganese and boron analysis were done in the soil samples. Total iron, zinc, copper, manganese, selenium and boron content were determined in plants samples. According to results of soil and leaf analysis, nutritional problems in term of selenium have been determined in the lands of maize cultivation in all districts. Nutritional problem in term of zinc has been determined in only Ceylanpinar district, in term of copper has been determined in Ceylanpinar and Viransehir district. Considering the results of the work carried out in Sanliurfa; it is understood that effective fertilization programs, methods and fertilization time are extremely important. The quality and highly efficient production in the maize cultivation is related to balanced fertilization, addition of organic fertilizers and other technical applications.

Şanlıurfa İlinde Mısır Tarımı Yapılan Alanların Selenyum ve Mikro Besin Elementleri Bakımından Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 13.05.2020

Kabul: 18.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.730026

Anahtar kelimeler

Mısır,

Mısır alanları,

Beslenme durumu,

Şanlıurfa,

Selenyum.

Öz: Bu çalışma, Şanlıurfa ilinde mısır yetiştiriciliği yapılan toprakların ve mısır bitkisinin selenyum ve mikro elementler açısından beslenme durumlarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla Şanlıurfa ili Merkez, Akcakale, Ceylanpinar, Harran ve Viransehir ilçelerinden toprak ve yaprak örnekleri alınmıştır. Toprak örneklerinde; tekstür, pH, EC, CaCO₃, organik madde, alınabilir selenyum ve değişebilir demir, çinko, bakır, mangan, bor analizleri yapılmıştır. Yaprak örneklerinde toplam demir, çinko, bakır, mangan, selenyum ve bor içerikleri belirlenmiştir. Toprak ve yaprak analiz sonuçlarına göre; tüm ilçelerde mısır tarımı yapılan alanlarda selenyum açısından beslenme sorunlarının yaşandığı tespit edilmiştir. Çinko açısından beslenme sorununun sadece Ceylanpinar ilçesinde, bakır açısından beslenme sorununun da Ceylanpinar ve Viransehir ilçesinde yaşandığı tespit edilmiştir. Şanlıurfa ilinde gerçekleştirilen bu çalışmanın sonuçları dikkate alındığında, etkili gübreleme programı, yöntemi ve zamanının son derece önemli olduğu anlaşılmaktadır. Mısır tarımında kaliteli ve yüksek verimli üretim; dengeli gübreleme, organik gübre ilavesi ve diğer teknik uygulamalarla ilgilidir.

1. Introduction

In the nutrition circle among human, plant and animal, the use of plant nutrient sources is important in animal feed, the use of animal nutrient sources is important in human nutrition. Maize is one of the important nutrients used as human food and animals feed. In recent years, maize has become the most important grain product used in the food industry of the modern world. In the World, the maize production is in second place after sugar cane with production amount of 1 016 736 092 tons according to the year 2013 data. In Turkey maize production with the 5.9 million tons production is in fourth place after wheat, sugar beet and barley. In Sanliurfa province, maize production is 732 125 tons of grain, 205 635 tons of silage on the 1 003 482 da area (Anonymous, 2013). Light acidic, unsalted, good organic matter, low medium calcareous and tin structure soils are ideal for maize plants. For maize plants, it is desired soil that the groundwater level is not high, well drained but sufficiently waterholding, without stone gravel, dark and in term of macro-micronutrients sufficient and balanced (Zengin and Ozbahce, 2011). The soil selection of maize plant is not too high, outside of very sandy or heavy clay soils, the soils of rich organic matter and plant nutrient, well drained, high water retention capacity are the most suitable for high yield (Kun, 1985), and high grain yields are obtained due to the developments of good root in deep, loamy and clayey-loamy soils (Bayram and Elmaci, 2014). Kun (1985) found that maize cultivation can be carried out in a very wide range of soil due to the reaction, but that the most suitable soil is slightly acidic or neutral soils maize is included in the medium-sensitive plants class in term of soil salinity. In general, maize plants can start to germinate when the soil temperature is 10-11 °C, germination accelerates when the temperature of the soil reaches 15 °C at 5-10 cm depth. When the temperature reaches 32 °C, a sudden decrease in the stem, stem extension is observed, when the temperature reaches 40 °C, germination stops (Kirtok, 1998). In term of human nutrition, maize grain contains iron (Fe), magnesium (Mg), potassium (K), A, B1, B3, B9 and C, as well as high carbohydrate (starch), protein, different sugar derivatives, fiber and fat content. Due to high protein, vitamin A content, maize grains become indispensable in animal nutrition, participate in feed rations at a rate of 15-65% (Emeklier, 2002). Maize grain has become one of the most important silage plants in the world for ruminant animals in recent years with the development of silage techniques, together with being a good feed for single mussels and poultry in animal feeding. The intense consumption of cerealbased foods, which are poor in micronutrient, causes micronutrient deficiencies in humans and serious health problems associated with it (Welch and Graham, 2005; Cakmak, 2008; Cakmak et al., 2009). These important nutrients are Fe, zinc (Zn) and selenium (Se). Selenium is one of the most studied micronutrients in the world along with Fe and Zn (Cakmak et al., 2009). Selenium which has an important place in nutrient is also commonly consumed by feed (Shamberger, 1984). Selenium has a potent antioxidant role in animals with vitamin E as synergistic action (Lawrence et al., 2003). In animal, white muscle disease occurs in case of lack Se. It is desirable that concentration of Se in consumed foods should be between 100-1000 µg kg⁻¹ for adequate nutrition of humans and animals (Alloway, 1968; Adams et al., 2002; Broadley et al., 2007; Cakmak et al., 2009). The most important source of Se and other nutrients in plant-based foods is soil (Marchner, 1995). Excessive or inadequate fertilization reduces yields, negatively affects product quality, and increases the susceptibility of plants to disease and harm (Gunes et al., 2000). Soil and leaf analysis should be used in order to establish a correct fertilization program in plants crops. With the soil analyzes the available concentrations of the nutrients in the soil are determined for plants, and the insufficiencies can be eliminated by fertilization. However, in addition of soil analysis, plant analysis need to be done in order to determination of the nutritional levels of plants and apply of fertilization programs. Plant analysis is a very important technique in term of revealing the utilization rate of plants from the nutrients available in the soil. There are many ecological factors limiting nutrient uptake conditions, although the nutrient ions are available (Deliboran et al., 2014).

This study aimed to determination of the nutritional status of maize growing areas in the Center, Viransehir, Ceylanpinar, Harran and Akcakale districts of Sanliurfa province in terms of Se and micro nutrients by soil and leaf analysis; to compare the obtained results with the reference values and to determine the problems arising for various reasons.

2. Materials and Methods

Soil and leaf samples constituting the research material were collected from total 38 maize farms in 2012 as Sanliurfa province Center, Akcakale, Ceylanpinar, Harran and Viransehir (Figure 1). Soil samples were taken from 0-30 cm depth (Jackson, 1967); leaf samples were taken from the complete leaves that has not completed its development just below the point where the hilltop leaves before pre-tuft of maize plants. The samples were prepared for analysis according to Kacar (1972).

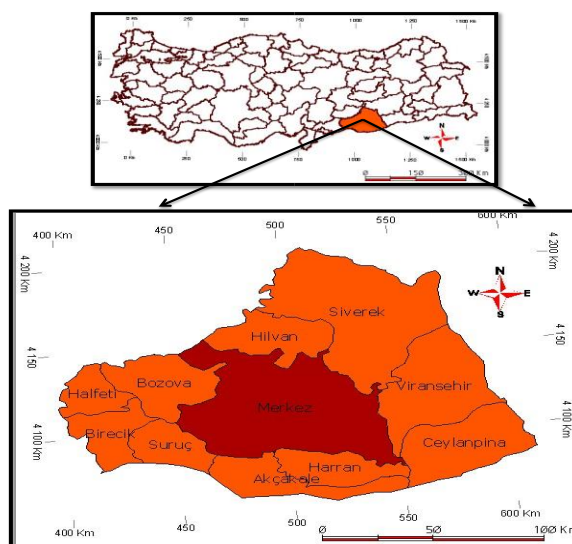


Figure 1. The research area.

In soil samples, texture (Bouyoucos, 1995); pH, electrical conductivity (EC), lime (CaCO_3) (Tuzuner, 1990); organic matter (OM) (Black, 1965); extractable Fe, Zn, manganese (Mn), copper (Cu) (Lindsay and Norvell, 1978); available boron (B) (Kacar, 1995) were determined. Available Se was determined by KH_2PO_4 extraction method by the Atomic Absorption Spectrophotometer (ASS) connected to ETC-60 (Electrothermal Temperature Controller) and VGA-77 (Vapor Generator Aparatus) apparatus (Cakmak et al., 2009).

Plant samples were burned with nitric acid (HNO_3)+perchloric acid (HClO_4) mixture and total B, Fe, Cu, Zn, Mn were determined by ICP (Kacar, 1995). Samples were dried to a constant weight at 40 °C in an air circulating dryer cabinet. The dried and ground samples were prepared for Se determination by wet digestion in microwave oven with 5 ml concentrated HNO_3 and 2 ml 30% hydrogen peroxide (H_2O_2) by using a digesting program, which have been developed. All Se measurements were checked against certificated Se values in different reference plant material (1547 Peach Leaves, NIST). After digestion, the total volume was completed up to 20 ml, and Se concentration of the samples were measured by ASS equipped with VGA 77 and ETC-60. Firstly, Se (+ VI) in the samples was reduced to Se (+ IV) form by treatment with hydrochloric acid. After, it was reacted with sodium tetraborate (NaBH_4) reductive in acidic medium and it was reduced to form volatile hydrogen selenide (SeH_2) and the absorption intensity was measured by atomizing SeH_2 at high temperature (850-950 °C) with ETC-60 instrument in the hydride forming unit of a hydride generator module (VGA-77) which mounted in front of the sample entry system of the Se (+ IV) AAS device. The accuracy and reproducibility of the analysis values were controlled using standard reference materials (NIST, Gaithersburg, USA) (Cakmak et al., 2009).

3. Results

3.1. Physical and chemical properties of soils

Some physical and chemical properties of Center, Viransehir, Ceylanpinar, Harran, Akcakale districts and General were given Table 1. In General the sand, clay and silt content of soils changed between 17-45%, 19-63%, 13-48%; the soil reaction, lime, OM and EC contents were between 7.10-8.00; 0.4-29.2%; 1.32-3.27%, 0.49-1.61 dS m⁻¹, respectively.

Table 1. Some physical and chemical properties of soil samples taken from maize cultivation area in the Sanliurfa province

Province		Texture (%)			pH	EC (ds m ⁻¹)	CaCO ₃ (%)	O.M. (%)
		Sand	Clay	Silt				
Center	Minimum	17	53	17	7.59	0.90	0.40	1.70
	Maximum	22	61	21	7.81	1.36	26.9	3.13
	Average	26	55	19	7.69	1.06	12.1	2.27
Viransehir	Minimum	22	51	13	7.61	0.92	7.6	1.59
	Maximum	28	63	22	7.81	1.44	14.0	2.39
	Average	25	59	17	7.68	1.35	10.8	1.98
Ceylanpinar	Minimum	22	33	19	7.59	0.49	16.3	1.89
	Maximum	43	59	26	7.75	0.88	28.8	3.27
	Average	35	42	23	7.64	0.67	25.1	2.50
	DK	21	19	12	1	19	18	20
Harran	Minimum	27	43	16	7.43	0.49	21.2	1.35
	Maximum	37	53	26	7.76	1.60	27.3	2.71
	Average	32	47	21	7.60	1.07	24.3	2.04
Akcakale	Minimum	21	19	16	7.10	0.65	15.1	1.32
	Maximum	45	53	48	8.00	1.61	29.2	3.11
	Average	31	44	25	7.72	1.11	23.0	2.03
General	Minimum	17	19	13	7.10	0.49	0.40	1.32
	Maximum	45	63	48	8.00	1.61	29.20	3.27
	Average	30	48	22	7.66	1.03	19.88	2.19
	Kurtosis	-0,44	0,73	12,58	4,47	0,04	-0,04	-0,13
	Skewness	0,58	-0,71	2,75	-1,02	0,52	-1,02	0,40
	Median	29,44	49,05	21,50	7,68	1,03	22,60	2,20
	StdS	6,74	9,85	5,64	0,15	0,34	8,46	0,50
	Variance	44,25	94,47	30,93	0,02	0,12	69,65	0,25
DK	22	21	26	2	33	43	23	

The soil reaction was determined between 7.59-7.81, 7.61-7.81, 7.59-7.75, 7.43-7.76, 7.10-8.00 and 7.10-8.00; the lime and OM contents changed between 0.4-26.9%, 7.6-14.0%, 16.3-28.8%, 21.2-27.3%, 15.1-29.2%, 0.4-29.2%; and between 1.70-3.13%; 1.59-2.39%; 1.89-3.27%; 1.35-2.71%, 1.32-3.11%, 1.32-3.27%, respectively. Also the EC content varied between 0.49-1.61 dS m⁻¹ (Table 1).

The extractable B, Fe, Zn, Mn and Cu contents ranged between 0.16-1.12 mg kg⁻¹, 1.42-5.09 mg kg⁻¹, 0.17-4.63 mg kg⁻¹, 0.02-5.19 mg kg⁻¹, 0.47-1.93 mg kg⁻¹, respectively in General. In General, Se content changed 0-50.830 µg kg⁻¹. In the Central district, the available Se content changed between 1.039-50.830 µg kg⁻¹; in the provinces of Viransehir, Ceylanpinar, Harran and Akcakale, the Se content was found to be less than 1 µg kg⁻¹ (Table 2).

Table 2. Extractable B, Fe, Zn, Mn, Cu and available Se concentrations of soil samples taken from the maize cultivation area in the Sanliurfa province

Province		Extractable elements (mg kg ⁻¹)					Se (µg kg ⁻¹)
		B	Fe	Zn	Mn	Cu	
Center	Minimum	0.17	1.81	0.27	1.90	0.98	1.039
	Maximum	0.77	4.09	4.63	5.19	1.46	50.830
	Average	0.35	3.22	1.60	3.27	1.22	10.320
	Kurtosis	1.56	-0.08	-0.32	0.18	-1.20	6.57
	Skewness	1.46	-0.67	1.24	0.64	-0.27	2.54
	Median	0.24	3.09	0.64	3.15	1.26	2.35
	StdS	0.22	0.82	1.79	1.11	0.18	18.04
	Variance	0.04	0.57	2.74	1.06	0.03	278.84
	DK	63	25	112	34	15	175
Viransehir	Minimum	0.16	2.36	0.33	2.09	1.17	<1ppb
	Maximum	0.25	3.33	2.67	3.68	1.20	<1ppb
	Average	0.22	3.02	0.95	3.02	1.18	<1ppb
	Kurtosis	2.09	3.76	4.61	0.39	-1.56	-2.91
	Skewness	-1.35	-1.88	2.12	-0.75	0.47	-0.24
	Median	0.22	3.18	0.57	2.98	1.18	0.41
	StdS	0.03	0.38	0.97	0.62	0.01	0.15
	Variance	487.69	64.32	1497.26	120.64	23.99	11236.57
	DK	16	13	103	21	1	40
Ceylanpinar	Minimum	0.23	1.42	0.17	2.11	0.47	0
	Maximum	0.44	2.68	4.59	4.87	0.98	<1ppb
	Average	0.34	2.10	1.73	3.43	0.76	<1ppb
	Kurtosis	-0.80	-0.03	-1.64	-1.73	2.78	9.00
	Skewness	0.21	-0.29	0.62	0.05	-0.77	3.00
	Median	0.34	2.06	0.38	3.61	0.76	0.00
	StdS	0.06	0.31	1.37	0.83	0.04	0.00
	Variance	0.00	0.13	2.92	1.01	0.02	0.00
	DK	17	15	79	24	5	0
Harran	Minimum	0.35	2.32	0.21	1.91	0.84	0
	Maximum	0.78	5.09	2.72	4.87	1.37	<1ppb
	Average	0.53	3.34	1.36	3.71	1.06	<1ppb
	Kurtosis	2.65	1.81	-0.48	0.85	-0.30	7.00
	Skewness	1.09	1.09	0.50	-0.80	0.60	2.65
	Median	0.50	3.38	1.18	3.48	1.09	0.00
	StdS	0.13	0.92	0.86	0.99	0.19	0.03
	Variance	0.02	0.73	0.64	0.85	0.03	0.00
	DK	26	28	64	27	18	265
Akcakale	Minimum	0.42	1.57	0.18	0.02	0.74	0
	Maximum	1.12	3.99	1.83	4.82	1.93	<1ppb
	Average	0.62	2.70	0.76	2.88	1.24	<1ppb
	Kurtosis	0.54	-0.43	-1.05	0.63	0.10	0.29
	Skewness	1.21	0.00	0.69	-0.50	0.98	1.38
	Median	0.52	2.65	0.53	2.84	1.13	0.00
	StdS	0.24	0.78	0.61	1.43	0.39	0.36
	Variance	0.05	0.55	0.33	1.84	0.14	0.12
	DK	39	29	80	50	32	170
General	Minimum	0.16	1.42	0.17	0.02	0.47	0.000
	Maximum	1.12	5.09	4.63	5.19	1.93	50.830
	Average	0.44	2.84	1.34	3.22	1.09	3.181
	Kurtosis	1.67	0.28	0.83	0.41	1.56	34.89
	Skewness	1.23	0.48	1.37	-0.38	0.82	5.82
	Median	0.42	2.78	0.67	3.41	1.06	0.00
	StdS	0.22	0.81	1.30	1.11	0.30	8.30
	Variance	0.05	0.64	1.65	1.20	0.09	67.01
	DK	49	29	98	35	28	261

3.2. Micro nutrient content of plant

In General, total B contents ranged from 17.56 to 160.60 mg kg⁻¹, total Fe, Cu, Zn, Mn between 67.97-253.00, 10.93-27.52, 14.36-101.50, 58.30-270.50 mg kg⁻¹, respectively. Se contents ranged between <10-38.48 µg kg⁻¹ in the Center, between 0-27.53 µg kg⁻¹ in Viransehir, depending on the provinces in general ranges from 0 to 38.48 µg kg⁻¹. The samples taken from Ceylanpinar, Harran and Akcakale districts do not contain Se (Table 3).

Table 3. Values for total B, Fe, Zn, Mn, Cu and Se concentrations of maize leaf samples

Province		B	Fe	Zn	Mn	Cu	Se
		%					
Center	Min.	17.56	75.90	26.71	90.87	17.17	<10 ppb
	Max.	32.62	156.10	101.50	157.80	26.54	38.48
	Avr.	26.77	101.56	48.33	113.80	20.89	18.76
Viransehir	Min.	36.43	67.97	24.77	86.07	17.80	nd
	Max.	149.20	97.59	57.27	176.90	25.66	27.53
	Avr.	98.95	88.26	38.67	124.31	19.69	<10 ppb
Ceylanpinar	Min.	79.21	79.92	14.36	67.83	15.00	nd
	Max.	160.60	156.40	88.24	177.40	26.15	nd
	Avr.	113.13	114.41	46.08	119.99	20.21	nd
Harran	Min.	43.72	121.70	27.18	58.30	12.13	nd
	Max.	56.10	253.00	83.17	206.50	19.27	nd
	Avr.	49.24	164.96	52.81	126.63	15.74	nd
Akcakale	Min.	28.02	116.10	17.29	74.18	10.93	nd
	Max.	74.67	243.70	75.19	270.50	27.52	13.32
	Avr.	51.43	166.19	47.13	151.66	18.11	<10 ppb
General	Min.	17.56	67.97	14.36	58.30	10.93	nd
	Max.	160.60	253.00	101.50	270.50	27.52	38.48
	Avarage	67.90	127.08	73.22	127.28	18.93	<10 ppb

nd: not detected.

4. Discussion and Conclusion

4.1. Physical and chemical properties of soils

According to Anonymous (1951); all soil samples of Center, Harran and Viransehir were C; 10% of Akcakale were L, 20% CL, 70% C; 56% of Ceylanpinar were CL, 44% C (Table 4). The vast majority of the studied agricultural lands were heavily textured (C) and the territory of the region is suitable for maize cultivation in terms of structure (Bayram and Elmaci, 2014).

Table 4. Distribution of some pyhsical and chemical properties of soil samples taken from maize cultivation areas according to the limits of adequacy

Properties	Center		Akcakale		Ceylanpinar		Harran		Viransehir		General		
	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	
Texture (%)	Loamy (L)	-	-	1	10	-	-	-	-	-	-	1	3
	Clayey Loamy (CL)	-	-	2	20	5	56	-	-	-	-	7	18
	Clayey (C)	7	100	7	70	4	44	7	100	5	100	30	79
pH	6.6-7.3	-	-	1	10	-	-	-	-	-	-	1	3
	7.4-7.8	7	100	6	60	9	100	7	100	5	100	34	89
	7.9-8.4	-	-	3	30	-	-	-	-	-	-	3	8
	8.5-9.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC (mmhos cm ⁻¹)	2.5>	7	100	10	100	9	100	7	100	5	100	38	100
	2.6-4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4.6-6.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7.0-10.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10<	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
CaCO ₃ (%)	0-2.5	2	29	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5
	2.6-5.0	1	14	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
	5.1-10.0	1	14	-	-	-	-	-	2	40	3	8	
	10.1-20.0	-	-	3	30	1	11	-	-	3	60	7	18
	20.0<	3	43	7	70	8	89	7	100	-	-	25	66
O.M (%)	0-2	2	29	5	50	1	11	3	43	2	40	13	34
	2-5	5	71	5	50	8	89	4	57	3	60	25	66
	5-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NS: Number of samples.

According to Kellogg (1952), all of the soils of Center, Ceylanpinar, Harran and Viransehir were mild alkaline; 10% of Akcakale neutral, 60% mild alkaline, 30% alkaline. Generally 3% of the soil were neutral, 89% mild alkaline, 8% alkaline (Table 4). Considering that maize vegetation can show the best growth in 6-7 pH range (Larson and Hanway, 1977; Zengin and Ozbahce, 2011), as a results of our study the soil of the region is suitable for maize farming in terms of pH. However, in order to decrease the pH in the alkaline reacting soil, powdered sulfur should be used in the autumn, preferably with farmyard or physiological acid fertilizers (Deliboran et al., 2014). Depending on the causes of alkalinity, opening of drainage channels, washing with water, soil jibs application can be done.

All of soils were unsalted class, the research area does not constitute a problem for salinity. If the soil salinity increases to 10 mmhos cm⁻¹, it is impossible to obtain the yield (Doorenhos and Kassam 1979; Kilic, 2005). In term of CaCO₃, 29% of the Center were low, 14% limy, 14% high, 43% extreme limy. In Harran, Akcakale, Ceylanpinar, Viransehir and General, all of the soils were very high and extreme limy class (Table 4). The lime content of the research soils were high when considering that the maize plant grows well in the low-medium limy soil.

29% of Center, 50% of Akcakale, 11% of Ceylanpinar, 43% of Harran, 40% of Viransehir and 39% of General soils were humus-poor class (Table 4), all soils were poor class. There is a generally high correlation between the OM and Zn content which is caused by the chelating compounds are cleaved during the decomposition of the OM, by increasing the Zn availability by making zinc-chelate compound (Aktas, 1995). For these reasons, it is thought that importance should be attached to organic fertilization.

Table 5. Distribution of determined extractable B, Fe, Zn, Cu, Mn and available Se concentrations of the soil samples taken from maize cultivation areas according to the limits of adequacy

Properties	Center		Akcakale		Ceylanpinar		Harran		Viransehir		Gernel			
	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%		
Extractable B (mg kg ⁻¹)	<0.50	Very low	5	71	5	50	9	100	2	29	5	100	26	68
	0.50-0.99	Low	2	29	4	40	-	-	5	71	-	-	11	29
	1.00-	Adaquate	-	-	1	10	-	-	-	-	-	-	1	3
	2.49	Much	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.50-4.99	Very much	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
>5.00														
Extractable Fe (mg kg ⁻¹)	2.5>	Lack	1	14	3	30	8	89	2	29	1	20	15	39
	2.5-4.5	Show deficieny	6	86	7	70	1	11	4	57	4	80	22	58
	4.5<	Good	-	-	-	-	-	-	1	14	-	-	1	3
Extractable Zn (mg kg ⁻¹)	0.5>	Lack	2	29	5	50	5	56	1	14	2	40	15	39
	0.5-1.0	Show defcieny	2	29	1	10	-	-	2	29	2	40	7	18
	1.0<	Good	3	42	4	40	4	44	4	57	1	20	16	42
Extractable Cu (mg kg ⁻¹)	0.2>	Inadequate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.2<	Adaquate	7	100	10	100	9	100	7	100	5	100	38	100
Extractable Mn (mg kg ⁻¹)	1>	Inadequate	-	-	1	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	1<	Adaquate	7	100	9	90	9	100	7	100	5	100	38	100
Available Se (µg kg ⁻¹)	100>	Poor	7	100	10	100	9	100	7	100	5	100	38	100
	100-1000	Middle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1000<	Rich	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NS: Number of samples.

When extractable B contents of soil are evaluated according to Wolf (1971); in Center, Ceylanpinar, Viransehir and Harran 100% were very low/low; in Akcakale 90% were very low/low, 10% adequate. In general, 97% were very low/low, 3% adequate class, boron deficiency was observed in 97% of the maize cultivated fields (Table 5). Low content of OM and high amount of lime, over-drought and over-precipitation are factors that reduce the use of available B (Keren et al., 1985; Goldberg, 1997). Soil pH is the most important soil characteristic that affects the intake by the boron plants. Boron uptake is decreased in plants due to increase in soil pH or excess calcification (Bartleta and Picarelli, 1973). According to the results, it has been determined that the B contents of soils that its pH was very low and low class was changed between 7.10-8 and slightly alkaline. When all of the above mentioned information is evaluated together, it is thought that boron deficiency indications in plant leaves are well observed, and boron deficiency is observed leaf analysis with soil analyzes, and foliar applications of boron fertilizer from leaf.

As a result of the classification reported by Lindsay and Norvell (1978), extractable Cu, Mn contents were adequate class, extractable Fe of Ceylanpınar soils were lack, the vast of the other provinces showed deficiencies class. For extractable Zn, 29% of Center were lack, 29% show deficiency, 42% good; 50% of Akcakale soils were lack, 10% show deficiencies, 40% good; 56% of Ceylanpınar were lack, 44% good; 14% of Harran were lack, 29% show deficiency, 57% good; about 80% of Viransehir were lack and show deficiency, 20% good class; in Generally 39% of soils were lack, 18% deficient, 42% good class (Table 5).

It has been determined that except 14% of Harran soils, all districts soils have a nutritional problems in terms of Fe, and about 57% of soils at all district have a problem in terms of Zn nutrition. Fe and Zn deficiency are the most common micronutrient deficiencies in soils. Fe and Zn deficiency is mainly caused by factors affecting the availability of iron to the soil and plant. These factors can be listed as low amount of Fe that can be taken to the soil, high amount of lime in the soil, high pH, high HCO_3^- ion concentration, excess of other heavy metals and low reduction capacity of plant roots. Higher pH due to excess lime and high amount of Ca^{2+} and HCO_3^- ions in the soil solution reduces the Fe and Zn availability in calcareous soil. In addition, sulfide formation and drainage disorders reduce Zn availability. There is usually a high correlation between soil organic matter coverage and extractable Zn coverage, when the OM is broken, due to chelating compounds, zinc-chelate compound is formed and zinc availability is increased (Aktas, 1995). In the research, the soils that have deficiency extractable Fe and Zn have a mildly alkaline character and a high/very high and over-calcified lime content, humus-poor and less humus. The low level of extractable Zn of soil can be lead to Zn deficiency in the plant, which causes considerable yield losses. Plant species show different tolerance to Zn deficiency. It is known that the response to Zn deficiency and Zn application is largely different between grain varieties or cultivars. Maize is only one of these plant species (Ozer, 1999; Ozguven and Katkat, 2001).

The results of the analysis were evaluated by Fine et al. (1971); all of the soil samples were in the poor class of Se (Table 5). Cakmak et al. (2009) reported that Se concentration of favorable soil collected from different parts of Turkey; in the South East Anatolia Region, is changed between 2.2 and 6.0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, with an average of 2.2 $\mu\text{g kg}^{-1}$. It is seen that the results of the low content of Se in the soil taken from the maize grown fields are overlapped with the findings of the researcher.

4.2. Nutrient content of plant

Table 6. Distribution of total B, Fe, Zn, Mn, Cu and Se concentrations of maize leaf samples according to the limits of adequacy

Limit values		Center		Akcakale		Ceylanpınar		Harran		Viransehir		General		
		NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	NS	%	
B (mg kg^{-1})	2-4	Low	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	5-25	Adequate	4	57	-	-	-	-	-	-	-	4	11	
	26-60	High	3	43	9	90	-	-	7	100	2	40	21	55
	61<	Very high	-	-	1	10	9	100	-	-	3	60	13	34
Fe (mg kg^{-1})	10-20	Low	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	21-250	Adequate	7	100	10	100	9	100	6	86	5	100	37	97
	251-350	High	-	-	-	-	-	-	1	14	-	-	1	3
Zn (mg kg^{-1})	15-24	Low	-	-	-	-	2	22	-	-	-	-	2	5
	25-100	Adequate	6	86	10	100	7	78	7	100	5	100	35	92
	101-150	High	1	14	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
Mn (mg kg^{-1})	10-19	Low	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20-200	Adequate	6	100	8	80	9	100	6	86	5	100	35	92
	201-300	High	-	-	2	20	-	-	1	14	-	-	3	8
Cu (mg kg^{-1})	2-5	Low	-	-	-	-	4	44	-	-	4	80	8	21
	6-20	Adequate	4	57	8	80	5	56	7	100	1	20	25	66
	21-70	High	3	43	2	20	-	-	-	-	-	-	5	13
Se ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	20	Low	3	43	10	100	9	100	7	100	4	80	33	87
	20-200	Adequate	4	57	-	-	-	-	-	-	1	20	5	13
	200<	High	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NS: Number of samples.

Compared with the reference B values, 57% of Center leaves were adequate, 43% high; in Akcakale 100% of Akcakale, Ceylanpinar, Harran and Viransehir were high/very high class (Table 6). It is seen that maize-grown areas do not have any nutritional problems in term of B, due to the leaves have sufficient levels of B, while extractable B levels of soils is very low and low (Table 5).

It was determined that leaves samples were adequate and high in terms of Fe, Zn and Mn (Table 6). When leaf and soil nutrient contents are evaluated together, the fact that the leaves contain enough Fe, even though almost half of the soil of all the provinces is in the deficient, shows that there is no nutritional problem related to this element. Although nearly half of the soil is in the deficient or deficient range of Zn, the fact that the leaves contain enough Zn suggests that there is no nutritional problem related to this element except Ceylanpinar district. It can be said that there is no problem in terms of Mn due to sufficient Mn contain of all soil and leaves samples in all districts. However, except 44% and 80% of Ceylanpinar and Viransehir districts are in the low class respectively, all the districts samples are in the adequate class for Cu (Table 6). For this reason, it can be said that nutritional problems are experienced in these two districts in terms of Cu, and nutrition problems are not experienced in other districts (Table 5; 6).

According to the Ozbek et al. (2001), 100% of Akcakale, Ceylanpinar and Harran soils were low, 43% of Center were low, 57% adequate; 80% of Viransehir were low, 20% enough class (Table 5). Leaf samples which appear in the sufficient group are insufficient in terms of Se feeding considering that they are in sufficient group with a very small difference when considering Se content. Considering that the available Se contents of soils are insufficient in all regions (Table 5), it appears that there is a feeding problem in terms of Se feeding in maize grown areas. According to Alloway (1968); Adams et al. (2002); Broadley et al. (2007), it is desirable that the concentration of Se in consumed foods is between 100-1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for adequate nutrition of both humans and animals. Miller et al. (1991) indicate that at least 0.1-0.3 mg kg^{-1} Se should be used in animal feed, 0.1-1 mg kg^{-1} Se is sufficient, and $>5 \text{ mg kg}^{-1}$ is toxic effect. Deliboran et al. (2016) showed that the Se content of maize was increased with Se application from leaves, that the Se content of leaves was 626.95 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and the Se content of grain was 523.37 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in 100 g ha^{-1} dose of sodium selenate, and this is adequate for animal feed. As our research, the low content of Se in the leaves taken from the maize grown areas indicates that there is no contribution to the feeding of selenium using this leaves as silage in terms of animals Se feeding.

It is considered that the results of this study carried out in Sanliurfa province, effective fertilization program is very important in terms of being economical and ecological its method and time. Also, quality and high yield production can be achieved with balanced fertilization, the addition of organic fertilizers and other technical applications.

References

- Adams, M. L., Lonbi, E., Zhao, F. J., & McGrath S. P. (2002). Evidence of low selenium concentrations in UK bread-making wheat grain. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 82, 1160-1165.
- Aktas, M. (1995). *Plant Nutrition and Soil Fertility*. Ankara University, Bultens of Agricultural Faculty, General Bulten Number: 1429, Ankara, Turkey.
- Alloway, W. H. (1968). Controls on the environmental levels of selenium. *Trace Substances Environmental Health*, 2, 181-206.
- Anonymous. (2013). Statistics of vegetative production. <http://www.tuik.gov.tr>. Access date: 16.03.2013.
- Anonymous. (1951). *Soil Survey Staff, Soil Survey Manuel, Agricultural Research Administration, Department of Agriculture Handbook* (pp. 340-377). No:18, Gount Point Office Washington, USA.
- Anonymous. (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. <http://www.fao.org>. Access date: 01.03.2015.
- Bartleta, R. J., & Picarelli, C. J. (1973). Availability of boron and phosphorus as affected by liming on acid potata soil. *Soil Science*, 116, 77-83.

- Bayram, S. E., & Elmaci, O. L. (2014). Investigation of the nutritional status of maize plantations in the Aegean Region Tire district. *Suleyman Demirel University, Journal of Agricultural Faculty*, 9(2), 26-32, ISSN: 1304-9984.
- Black, C. A. (1965). *Methods of Soil Analysis* (pp. 1372-1376). Part 2, American Society of Agronomy Inc., Publisher, Madison, Wisconsin, USA.
- Bouyoucos, G. J. (1955). A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of the soils. *Agronomy Journal*, 4(9), 434.
- Broadley, M. R. White, P. J., Bryson, R. J., Meacham, M. C., Bowen, H. C., Johnson, S. E., Hawkesford, M. J., McGrath, S. P., Zhao, F. J., Breward, N., Harriman, M., & Tucker, M. (2007). Biofortification of UK food crops with selenium. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 65, 169-181.
- Cakmak, I. (2008). *Micro elements deficiencies in soils and phyto-nutrient* (pp. 33-39). 4. National Plant Nutrient and Fertilizer Congress, 8-10 October, Konya, Turkey.
- Cakmak, I., Ozturk, L., Basaga, H., Cekic, C., Taner, S., Irmak, S., Geren, H., Kilic, H., Aydin, N., Avci, M., & Gezgin, S. (2009). *Investigation of the wheat and soil selenium concentration in selected regions in Turkey, reaction of wheat to selenium fertilizers and physiological characterization of selenium-rich wheat genotypes*. Project Number: 105 0 637. Tubitak Final Report.
- Deliboran, A., Coskun, M., Abrak, S., & Seyhanligil, N. (2014). Evaluation of nutritional status of pepper and cucumber plants grown in greenhouse in Sanliurfa-Karaali district by soil and plant analysis. *Turk Journal Agric Research*, 1, 138-147.
- Deliboran, A., Isik, Y., Aslan, H., Nacar, A. S., Kara, H., Tekgul, Y. T., Harmankaya, M., & Gezgin, S. (2016). *The effect of selenium application on yield, yield components and feed quality of maize plant*. TAGEM-TSKAD/13/A13/PO4/9, Final Report.
- Doorenhos, J., & Kassam, A. H. (1979). *Yield Response to Water* (p.193). FAO Irrigation and Drainage Paper No: 33, FAO, Rome, Italy.
- Emeklier, Y. (2002). *Chemical of Maize as A Gold Grain and Use on Indusry* (pp.100-125). Manifest of Maize Panel on Production to Consumption, T.C. Sakarya Governorship. 19 December, Sakarya, Turkey.
- Fine, L. O. (1965). *Selenium. Methods of Soil Analysis. Part II Chemical and Microbiological Properties*. Ed. C.A. Black. American Society of Agronomy, Inc., Publisher. Madison, Wisconsin, USA.
- Goldberg, S. (1997). Reaction of boron with soils. *Plant and Soil*, 193, 35-48. Proceedings. (ed) Bell, R.W. and Rerkasem, B. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands,
- Gunes, A., Alpaslan, M., & Inal, A. (2000). *Plant Nutrition and Fertilizer* (p.467). Ankara University, Agricultural Faculty Bultens: 1514, Textbook, Ankara, Turkey.
- Jackson, M. C. (1967). *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall of India Private Limited, New Delhi, USA.
- Jones, J. R., Wolf, B., & Mills, H. A. (1991). *Plant Analysis Handbook: A practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide* (p.213). Micro Macro Publishing, Athens, GA, Inc. ISBN 10: 1878148001/ ISBN 13: 9781878148001.
- Kacar, B. (1972). *Chemical Analysis of Plant ans Soil, II. Plant Analysis* (p.646). Ankara University, Agricultural Faculty Bultens, Bultens No: 453, Ankara.
- Kacar, B. (1995). *Chemical Analysis of Plants and Soils, III. Soil Analysis* (p. 705). Ankara University Faculty of Agriculture, Education, Research and Development Foundation Publications No: 3, Ankara.
- Kellogg, C. E. (1952). *Our Garden Soils*. The Macmillan Company, New York.
- Keren, R., & Bingham, F. T. (1985). Boron in water, soils and plants. *Advances in Soil Science*, 1, 230-276.
- Kilic, O. G. (2005). *The effects of potash fertilization on the yield, yield components, growth and development parameters of maize under water stress conditions*. (PhD), Ege University Institute of Science, Department of Soil Science, Bornova, Izmir, Turkey.
- Kirtok, Y. (1998). *Corn Production and Use*. Cukurova University Faculty of Agriculture, Department of Agronomy, Adana, Turkey.
- Kun, E. (1985). *Hot Climate Grains*. AU Faculty of Agriculture Publications, No: 93, Ankara.

- Larson, W. E., & Hanway, J. J. (1977). Corn and corn improvement, corn production. Editor: G.F. Sprague, *American Society of Agronomy*, Wisconsin, USA.
- Lawrence, A. K, Amadeo, J. P, & Steven, C. K. (2003). *Clinical Chemistry*. 4th Edition. 714.
- Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science American Journal*, 42(3), 421-428.
- Miller, E., Lei, R. X., & Ullrey, D. E. (1991). *Trace Elements in Animal Nutrition* (pp. 593-662). In: Micronutrients in Agriculture, 2 Ed, (J, Mortvedt, F, R, Cox, L, M, Shuman and R, M, Welch, Eds.). SSSA Book Series No: 4, Madison, WI, USA.
- Mikkelsen, R. L., Page, A. L., & Bingham, F. T. (1989). Factors affecting selenium accumulation by agricultural crops, In: Selenium agriculture and the environment. Madison, WI: *American Society for Agronomy Soil Science Society of America*, 65.
- Ozer, M. S. (1999). *Reactions of different corn genotypes to zinc fertilization in Harran Plain conditions and selection of zinc insufficient genotypes*. (PhD), Cukurova University, Sciences Institute, Adana, Turkey.
- Ozguven, N., & Katkat, A. V. (2001). The effect of increasing amounts of zinc on yield and zinc intake of corn plant. *Journal of Uludağ University Faculty of Agriculture*, 15, 85-97.
- Ozyazici, M. A., Dengiz, O, & Saglam, M. (2013). Producing of clover (*Medicago sativa* L.) cultivated soils in Artvin province and revealing potential nutritional problems. *Artvin Coruh University, Journal of Forestry Faculty*, 14 (2), 225-238.
- Shamberger, R. J. (1984). *Selenium*. In; *Friend, E, Editor. Biochemistry of the essential ultratrace elements* (pp. 201-237). Plenum Press, New York.
- Taban, S., & Turan, C. (1987). Effects of different amounts of iron and zinc on the growth of the corn plant and mineral substance content. *Doğa Turkish Agriculture and Forestry Journal*, 11, 448-456.
- Tuzuner, A. (1990). *Soil and Water Analysis Laboratories Handbook* (p. 374). Ministry of Agriculture, Forestry and Rural Affairs, General Directorate of Rural Services, Publication No: 279, Ankara, Turkey.
- Ul, M. A. (1990). *A research on the effect of irrigation applied at different stages of development of the maize plant grown as a second crop under Menemen Plain conditions*. (PhD), Ege University, Institute of Science, Culture and Technology Department, Izmir, Turkey.
- Zengin, M., & Ozbahce, A. (2011). *Climate and Soil Desires of Plants*. (p.6). Atlas Academy Publications Publication No: 45b, Konya, Turkey.
- Zengin, M., Karaman, M. R., & Gezgin, S. (2012). *Effects of humic acid and chemical fertilizer applications on yield and yield components of maize*. Sakarya University Journal of Science and Literature, Special Issue, 373-381, I. National Humic Congress, 06-09 June, Sakarya, Turkey.
- Welch, R. M., & Graham, R. D. (2005). Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 299-307.
- Wolf, B. (1971). The determination of boron soil extracts, plant materials, composts, manure water and nutrient solutions. *Soil Science and Plant Analysis*, 2 (5), 363-374.



Araştırma Makalesi (Research Article)

Phytochemical Properties of Some Mulberry Genotypes Grown in Malatya Province

Rukiye YAMAN*¹

¹Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, Apricot Research Institute, Malatya, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-2996-4386>

*Corresponding author: rukiye.yaman@tarimorman.gov.tr

ArticleInfo

Received: 25.08.2020

Accepted: 18.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI:10.29133/yyutbd.785270

Keywords

Anthocyanin,

Mulberry,

Phytochemical.

Abstract: Mulberry fruits contain large amounts of anthocyanins, polyphenols, flavonoids components and minerals which are important for human health. In this study, phytochemical properties of some mulberry genotypes in theecologicalconditions of the Malatya region were investigated. ‘Kenmochi’, ‘Bursa Siyah’, ‘44 BA 05’, ‘Elazığ İçme’, ‘23 MRK 09’ the mulberry genotypes and one patented ‘Ichinose’ cultivar were studied concerning their total phenolic content, total monomeric anthocyanin, total antioxidant capacities and individual sugar compositions. Some mulberry genotypes were found the richest with regard to total phenolic and total anthocyanins content. The total phenolic content was found from 958.60 to 3573.79 mg/kg gallic acid equivalents, total anthocyanin content to vary from 177.10 to 2221.60 mg/kg cyanidin-3-glucoside. The antioxidant activities of ‘Kenmochi’ and ‘44 BA 05’ genotypes were higher than those of the others genotypes. These results will be useful for selecting mulberry species that are important in terms of phytochemical content.

Malatya İlinde Yetişen Bazı Dut Genotiplerinin Fitokimyasal Özellikleri

Makale Bilgileri

Geliş: 25.08.2020

Kabul: 18.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI:10.29133/yyutbd.785270

Anahtar kelimeler

Antosiyanin,

Dut,

Fitokimyasal.

Öz: Dut meyvesi, insan sağlığı için önemli antosiyanin, polifenol, flavonoid bileşenlerini ve mineral maddelerini yüksek miktarda içermektedir. Bu çalışmada, Malatya bölgesinin ekolojik koşullarındaki bazı dut genotiplerinin fitokimyasal özellikleri incelenmiştir. ‘Kenmochi’, ‘Bursa Siyah’, ‘44 BA 05’ ‘Elazığ İçme’, ‘23 MRK 09’dut genotiplerivle tescillenmiş bir çeşit olan ‘Ichinose’ toplam fenolik madde içeriği, toplam monomeric antosiyanin, toplam antioksidan kapasite ve şeker bileşimleri bakımından incelenmiştir. Bazı dut genotiplerinin toplam fenolik ve toplam antosiyanin içerikleri bakımından daha zengin olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriği 958.60 ile 3573.79 (mg/kg gallik asit eşdeğeri), toplam antosiyanin içeriği ise 177.10 ile 2221.60 (mg/kg siyanidin-3-glukozit) aralığında değişmektedir. ‘Kenmochi’ ve ‘44 BA 05’ genotiplerinin, antioksidan aktiviteleri bakımından diğer genotiplerden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçların, fitokimyasal içerik bakımından önemli olan dut genotiplerinin seçilmesinde faydalı olacağı düşünülmektedir.

1. Introduction

Fruits contain the nutrients necessary for the improvement of the human body, protection from diseases and the good functioning of many organs. The mulberry, which exists is in small fruits, has an important place in nutrition due to the high nutrient content, and interest in the mulberry is increasing recently. Mulberry belongs to the *Moraceae* family. The most commonly occurring species are *Morus*

nigra (Black mulberry), *Morus rubra* (Red-purple mulberry) and *Morus alba* (White mulberry) but the color of mulberry fruits is not enough to describe mulberry species (Aramwit et al., 2010; Ercişli and Orhan, 2007; Khalifa et al., 2018). *Morus rubra* is mostly grown in Mediterranean and Middle Eastern countries and these fruits particularly desirable in Turkey (Ercişli et al., 2010). The cultivation of this species has been known for many years in Turkey (Ercişli, 2004). Red-purple mulberries have attracted attention as a natural source of minerals (Akbulut and Özcan, 2009; Ercişli et al., 2010; Jiang and Nie, 2015), vitamins (Ercişli et al., 2010; Gündoğdu et al., 2018), carotenoids (Isabelle et al., 2008) and phenolic compounds (Sánchez-Salcedo et al., 2015).

Small fruits are important fruit types that are liked and consumed in various forms in the world and Turkey. Mulberry fruit is consumed by processing it in different products as well as fresh consumption. There is an increase in fresh fruit consumption due to its potential health benefits and high polyphenols content (Brand et al., 2017). People's fresh fruit consumption requests made it possible for this fruit to be placed on the market shelves in small packages.

In the last years, there is increasing research in mulberry fruits, their chemical composition and health benefits. There have been some *in vivo* and *in vitro* studies on the main nutrient components, chemical compositions, biochemical, and antioxidant properties of mulberry species grown in different regions of the Turkey.

Fruits, leaves, roots, and bark of several mulberry species have been used in traditional medicine in Turkey. Especially black fruits are used against various diseases diabetes, hypertension, anemia and mouth lesions (Özgen et al., 2009). Therefore black mulberry is more popular than other mulberry varieties. Mulberry juices are used to increase hair growth, aid in weight loss and control excessive thirst (Nazim et al., 2017).

Mulberry fruit is rich in compounds with phytochemical properties but fruit cultivars/genotypes, seasonal differences, fruits maturity, processing procedure, and geographic origin affect in the nutritional characteristics. The various genotypes of the same fruit may show some differences in terms of polyphenol and chemical compounds as in other studies (Bae and Suh, 2007; Ercişli and Orhan, 2008; Jakobek et al., 2012). Moreover, maturity stages as full-ripe and semi-mature affect the chemical properties of fruits such as ascorbic acid, total phenolic content (Mahmood et al., 2017; Nayab et al., 2020).

In general, the major phenolic groups were hydroxy benzoic and hydroxy cinnamic acid derivatives in mulberry fruits (Khalifa et al., 2018). The results of Gündoğdu et al. (2011) indicated that the highest content of phenolic acids, which mainly chlorogenic acid. Natic et al. (2015) reported the content of rutin in black-colored mulberry samples are high while the contents in the white- and pink-colored sample were low.

Our purpose in this study is to determine the phytochemical properties of some mulberry genotypes in mulberry genetic resources. Furthermore, it is to reveal that mulberry fruit is a natural source of polyphenol compounds.

2. Materials and Methods

2.1. Plant materials

Five genotypes of mulberry; including 'Kenmochi', 'Bursa Siyah', 'Elazığ İçme', '23 MRK 09' and '44 BA 05' and one cultivar 'Ichinose' were used to in this study. The fruits were collected from mulberry genetic resources parcel in Apricot Research Institute, Malatya. Mulberry fruits used in this study are red and black colored.

2.2. Fruit harvest and physicochemical features of mulberry fruits

Fruit characteristics of mulberries were measured on fresh mulberry immediately after the harvest.

The total soluble solids content was indicated with a digital refractometer (Pocket refractometer PAL-1, Atago, Tokyo) and the values were stated in °Brix.

The titratable acidity was determined by titration of an aqueous mulberry homogenate solution with 0.1 N NaOH to ultimate value pH 8.1 and the values were expressed as malic acid.

pH, the fruits were homogenized and the pH was measured in fruit juice using a digital pH meter (pH Benchtop Meter, Thermo Scientific Orion 2 Star).

Fruit weight, the fruit weight was measured by using an electronic balance (BL-320H, Shimadzu). The weight of mulberries with respect to three replications, with ten fruits in each replication.

2.3. Preparation of mulberry extracts

Mulberry fruits were harvested in full ripeness stage in Malatya, in June of 2019. Fruits were homogenized with an electric blender. A 1.0 g of homogenized samples were transferred into a test tube and were extracted by a mixture solution of the composition methanol: water: hydrochloric acid (70:29.9:0.1, v/v/v). After that, the mixture was centrifuged (10 min, 6000×g) and the obtained supernatant was taken into another tube. The extraction procedure was repeated two times and extracts were combined. The crude extract was filtered before used for analysis. Extracts were prepared daily and were kept at +4 °C until used.

2.4. Determination of total phenolic content

The total phenolic content was determined by the modified Folin Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965). The results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per kg of fresh weight.

2.5. Determination of antioxidant activity

The total antioxidant activity was determined by 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assays.

2.5.1. DPPH antioxidant assay

The DPPH method was performed according to Thaiponga et al. (2006) with some modifications. The results were calculated as milligrams Trolox equivalents (TE)/kg of fresh weight.

2.5.2. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

The TEAC assay is based on the inhibition of radical cation ABTS⁺, which prepared with potassium persulfate, by antioxidant compounds in samples (Singh and Singh, 2008). The absorbance of standard and samples was taken at 734 nm using the UV-spectrophotometer (UV-VIS 1208 Spectrophotometer, Shimadzu, Japan). Total antioxidant activities of the samples were expressed as milligrams Trolox equivalents (TE)/kg fresh weight (Thaipong et al., 2006; Re et al., 1999).

2.6. Total monomeric anthocyanins

Total anthocyanins were determined by pH-differential method (Lee et al., 2005) using a UV-VIS spectrophotometer (UV-VIS 1208 spectrophotometer, Shimadzu, Japan).

2.7. Content of sugar

Mulberry fruits were analyzed by using HPLC to determine the sugar content. The mulberry samples (1.0 g) were taken in a tube. 10 mL of distilled water was added and vortexed. After centrifugation, an amount was taken from the upper phase and filtered through a 0.45 µm filter (25 mm HPLC syringe Filter, PVDF, Lab marker). Analysis of samples was performed by HPLC (Shimadzu, Japan) with a reagent index detector (RI) (Llano et al., 2017; Talcott et al., 1999). The elution solvents consist of 100% ultrapure water. The separation column was used a Carbosep CHO 87C carbohydrate column (7.8x300 mm, Concise separations, San Jose, California) at 80 °C.

2.8. Statistical analysis

Statistical analysis was performed by one-way analysis of variance using the SPSS package (version 25). The differences among the genotypes were analyzed using the Duncan test at the 0.05 significance level. The correlations between the total phenolic content and antioxidant activities were tested by Pearson's coefficient.

3. Results

3.1. Some physicochemical features such as total soluble solids, pH, titratable acidity, fruit weight in mulberry fruits

Some physical and chemical characteristics of mulberry genotypes (the fruit weight, pH, total soluble solids, titratable acidity) are given in Table 1. Statistical differences ($P < 0.05$) were found in physicochemical properties among the mulberry genotypes. Fruit weight of mulberry genotypes ranged between 1.30 g and 3.03 g, with 'Kenmochi' mulberry fruits having the biggest fruit weight. The acidity from 0.19% (Bursa Siyah) to 0.45% (Elazığ İçme), pH from 6.18 (Bursa Siyah) to 4.84 (Kenmochi), TSS from 13.30% (Kenmochi) to 27.45% (Bursa Siyah).

Table 1. Fruit weight, TSS, pH and titratable acidity in mulberry fruits

Genotype/Cultivar	Fruit weight (g)	Total soluble solids (TSS,%)	pH	Titratable acidity (%)
Bursa Siyah	1.82cd	27.45a	6.18a	0.19d
Kenmochi	3.03ab	13.30e	4.84b	0.28bc
44 BA 05	2.31ab	23.90b	5.06b	0.40a
Elazığ İçme	2.61a	20.02c	5.01b	0.45a
23 MRK 09	1.30d	21.40c	5.93a	0.23cd
Ichinose	1.69bc	17.75d	4.90b	0.35ab

*Difference between means showed with the different letters within the same column are significant at 0.05 level.

3.2. Content of sugar in mulberry fruits

Individual sugar contents were identified by HPLC (Shimadzu, Japan). The results of the sugar analysis are given in Table 2.

Table 2. Content of sugar in mulberry fruits (g/100 g)

Genotype/Cultivar	Bursa Siyah	Kenmochi	44 BA 05	Elazığ İçme	23 MRK 09	Ichinose
Glucose	8.19a	5.18cd	5.72c	6.55b	6.40b	4.70d
Fructose	10.53a	6.41c	8.58b	8.49b	8.09b	5.80c

*Difference between means showed with the different letters within the same column are significant at 0.05 level.

3.3. Total phenolic content and antioxidant activity in mulberry fruits

The antioxidant activity was determined using DPPH and ABTS methods and the results show that the total antioxidant activity in mulberries ranged from 871.32-2368.76 mg TE /kg of fw for DPPH methods. The results between 743.00-4072.34 mg TE/kg of fw were obtained with the ABTS method. The phenolic contents and antioxidant activities determined are shown in Table 3. The results show that statistically significant differences were observed in mulberry genotypes.

Table 3. Total phenolics and antioxidant activity in mulberry fruits

Genotype/Cultivar	Total phenolic content (mg GAE/kg of fw)	DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (mg TE/kg of fw)	ABTS (Trolox equivalent antioxidant capacity) (mg TE/kg of fw)
Bursa Siyah	1429.71c	1166.97d	1220.31d
Kenmochi	3568.17a	2221.60b	4072.34a
44 BA 05	3573.79a	2368.76a	3818.91b
Elazığ İçme	2203.60b	1737.07c	2442.94c
23 MRK 09	958.60d	871.32e	743.00e
Ichinose	3475.77a	2217.49b	4027.72a

*Difference between means showed with the different letters within the same column are significant at 0.05 level.

3.4. Total monomeric anthocyanin in mulberry fruits

The total anthocyanin contents were from 177.10 to 2221.60 mg/kg fresh weight of fresh fruit. The results concerning the total anthocyanins of genotypes are shown in Table 4. Genotypes 'Kenmochi' and '44 BA 05' have the highest anthocyanin content and no istatistical difference was found between these genotypes.

Table 4. Total monomeric anthocyanins in mulberry fruits

Genotype/Cultivar	Bursa Siyah	Kenmochi	44 BA 05	Elazığ İçme	23 MRK 09	Ichinose
Total monomeric anthocyanins (mg/kg fw)	177.10e	2200.24a	2221.60a	1272.15c	445.82d	2055.00b

*Difference between means showed with the different letters within the same column are significant at 0.05 level.

4. Discussion and Conclusion

The analysis of mulberry samples indicated different physicochemical properties among the genotypes/cultivar. Organic acids, sugars, total soluble solids (TSS) and their ratios, play important roles in the taste and flavor properties of fruit (Liang et al., 2012). Organic acid and sugar contents of fruits vary according to cultivars. In addition, sugar-acid composition and amounts are the primary determinants of taste attributes of fruits (Gündoğdu et al., 2014). Therefore, the acidity is an important parameter to assess the taste of mulberry fruits. Malic acid is the most predominant organic acids in mulberry fruits species (Gündoğdu et al., 2011). The 'Bursa Siyah' has the highest total soluble solids and pH value. Therefore, these properties give the 'Bursa Siyah' mulberry fruits a better taste. These results may be due to genotype difference. The findings of mulberries characteristics are showed similarities comparison with Çöçen's work (2017).

According to the results of this study, the main sugar identified were fructose (5.80-10.53 g/100 g FW) and glucose (4.70-8.19 g/100 g FW). Fructose was the dominant sugar followed by glucose, while sucrose was not detected. These results are showed similarity with those previously reported (Özgen et al., 2009; Sanchez et al., 2014). Glucose and fructose were considerably higher in fruits of genotype 'Bursa Siyah' than in fruits of other genotypes. Besides, 'Bursa Siyah' had the highest content of soluble solids content. Sugars constitute a large part of water-soluble dry substances. The sugar content in mulberries depends on many reasons such as the growing conditions and fruits maturity.

Anthocyanins, the main color pigments of mulberry fruit and important for potential health effects. The black-colored mulberries are a source of anthocyanins, which mainly consist of cyanidin 3-O-rutinoside, cyanidin 3-O-glucoside, pelargonidin 3-O-rutinoside and pelargonidin 3-O-glucoside (Khalifa et al., 2018). Cyanidin 3-O-glucoside is the highest content in mulberry fruit. Similar results have been indicated by Kim and Lee, (2020). The amount of anthocyanin increases with maturation in mulberries, but factors such as harvest time and type and fruit processing procedure are affect the amount of anthocyanins. Anthocyanins in some mulberry genotypes are very sensitive to enzymatic

oxidation, and waiting for a certain period leads to browning (Karaçalı, 2002). This characteristic feature was mostly observed in 'Bursa Siyah' genotype.

Fruits have different polyphenols composition and their antioxidant activities that may be caused differ greatly. Furthermore, various genotypes of the same fruit can indicate important differences in the phytochemical properties (Jakobek et al., 2012). Berries containing bioactive compounds reduce the oxidative reaction which can lead to various diseases. Literature indicates that antioxidant activity differs in many berries (blackberry, strawberry, raspberry, chokeberry, bilberry, and mulberry) with genotypes and harvest maturity (Mikulic-Petkovsek et al., 2012; Nayab et al., 2020). Mulberry fruits have higher polyphenols content, like other berries. '44 BA 05' had the highest content of total phenolics in mulberry fruits from different genotypes followed by 'Kenmochi' genotypes. A statistically significant difference was found between genotypes 'Ichinose', 'Kenmochi' and '44 BA 05' (the highest phenolic compound content) and '23 MRK 09' (the lowest amount).

DPPH and ABTS methods are simple and rapid. ABTS radical scavenging assay is a short procedure time (Durmaz, 2012) and ABTS⁺ radicals react rapidly with antioxidant compounds in fruits. However, if absorbance values are read before the end of there action, the results can be lower than expected. Therefore, the endpoint of there action was determined, when reduce of absorbance reached the finish (Jakobek et al., 2012). 'Kenmochi' have the highest antioxidant activities in genotypes.

In conclude, there were determined statistically significant differences between mulberry species in contents of total phenolic, total anthocyanin, total antioxidants and sugar. In addition, between total phenolic content and total antioxidant activities of mulberry genotypes were determined a high positive correlation.

References

- Akbulut, M., & Özcan, M.M. (2009). Comparison of mineral contents of mulberry (*Morus spp.*) fruits and their pekmez (boiled mulberry juice) samples. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(3), 231-239.
- Aramwit, P., Bang, N., & Srichana, T. (2010). The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. *Food Research International* 43, 1093-1097.
- Bae, S. H., & Suh, H. J. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT- Food Science and Technology*, 40(6), 955-962.
- Brand, M. H., Connolly, B. A., Levine, L. H., Richards, J. T., Shine, S. M., & Spencen, L. E. (2017). Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited aronia species. *Scientia Horticulturae*, 224, 332-342.
- Çöçen, E. (2017). *Malatya dut genetik kaynakları parselinde bulunan dut genotiplerinin fenolojik, pomolojik ve morfolojik karakterizasyonu*, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, Türkiye.
- Durmaz, G. (2012). Freeze-dried ABTS⁺ method: A ready to use radical powder to assess antioxidant capacity of vegetable oils. *Food Chemistry*, 133, 1658-1663.
- Ercişli, S. (2004). A short review of the fruit germ plasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(4), 419-435.
- Ercişli, S., & Orhan, E. (2007). Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*, 103(4), 1380-1384.
- Ercişli, S., & Orhan, E. (2008). Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 116, 41-46.
- Ercişli, S., Tosun, M., Duralija, B., Voća, S., Sengul, M., & Turan, M. (2010). Phytochemical content of some black (*Morus nigra* L.) and purple (*Morus rubra* L.) mulberry genotypes. *Food Technology & Biotechnology*, 48 (1).
- Gündoğdu, M., Muradoğlu, F., Gazioğlu Sensoy, R.I., & Yılmaz, H. (2011). Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Scientia Horticulturae*, 132, 37-41.
- Gündoğdu, M., Ozrenk, K., Ercişli, S., Kan, T., & Kodad, O., et al. (2014). Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven hawthorn species (*Crataegus spp.*) from Turkey. *Biological Research*, 47, 21.

- Gündoğdu, M., Tunçtürk, M., Berk, S., Şekeroğlu, N., & Gezici, S. (2018). Antioxidant capacity and bioactive contents of mulberry species from Eastern Anatolia Region of Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52(4), 96-100.
- Jakobek, L., Drenjančević, M., Jukić, V., & Šeruga, M. (2012). Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. *Scientia Horticulturae*, 147, 56-63.
- Jiang, Y., Nie, & W. J. (2015). Chemical properties in fruits of mulberry species from the Xinjiang province of China. *Food Chemistry*, 174, 460–466.
- Karacali, İ. (2002). Bahçe ürünlerinin muhafaza ve pazarlanması. *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları* No 494 (in Turkish).
- Kim, I., & Lee, J. (2020). Variations in anthocyanin profiles and antioxidant activity of 12 genotypes of mulberry (*Morus spp.*) fruits and their changes during processing. *Antioxidants*, 9, 242.
- Khalifaa, I., Zhua, W., Lia, K., & Lia, C. (2018). Polyphenols of mulberry fruits as multifaceted compounds: Compositions, metabolism, health benefits, and stability-A structural review. *Journal of Functional Foods*, 40, 28-43.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278.
- Liang, L., Wu, X., Zhu, M., Zhao, W., Li, F., Zou, Y., & Yang, L. (2012). Chemical composition, nutritional value, and antioxidant activities of eight mulberry cultivars from China. *Pharmacognosy*, 31(8).
- Llano, T., Quijorna, N., Andrés, A., & Coz, A. (2017). Sugar, acid and furfural quantification in a sulphite pulp mill: Feedstock, product and hydrolysate analysis by HPLC/RID. *Biotechnology Reports*, 15, 75-83.
- Mahmood, T., Anwar, F., Afzal, N., Kausar, R., Ilyas, S., & Shoaib, M. (2017). Influence of ripening stages and drying methods on polyphenolic content and antioxidant activities of mulberry fruits. *Food Measure*.
- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Slatnar, A., Stampar, F., & Veberic, R. (2012). Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *Journal of Food Science*.
- Natic, M. M., Dabic, D. C., Papetti, A., FotiricAkšic, M. M., Ognjanov, V., Ljubojevic, M., & Tešic, Z.L. (2015). Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.) fruits grown in Vojvodina, North Serbia. *Food Chemistry*, 171, 128-136.
- Nayaba, S., Razzaqa, K., Ullaha, S., Rajwanaa, I. A., Amina, M., Farieda, H. N., Akhtara, G., Khanb, A. S., Asghara, Z., Hassana, H., & Naz, A. (2020). Genotypes and harvest maturity influence the nutritioal fruit quality of mulberry. *Scientia Horticulturae*, 266, 109311.
- Nazim, N., Buhroo, Z. I., Mushtaq, N., Javid, K., Rasool, S., & Mir, G. M. (2017). Medicinal values of products and by products of sericulture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(5), 1388-1392.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Sánchez, E. M., Calín-Sánchez, Á., Carbonell-Barrachina, Á. A., Melgarejo, P., Hernández, F., & Martínez-Nicolás, J. J. (2014). Physicochemical characterisation of eight Spanish mulberry clones: processing and fresh market aptitudes. *International Journal of Food Science Technology*, 49, 477-483.
- Sánchez-Salcedo, E. M., Mena, P., García-Viguera, C., Hernández, F., & Martínez, J. J. (2015). Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, a starting point for the assessment of their beneficial properties. *Journal of Functional Foods*, 12, 399-408.
- Singh, S., & Singh, R. P. (2008). In vitro methods of assay of antioxidants: an overview. *Food Reviews International*, 24(4), 392-415,
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Society for Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

- Talcott, S. T., & Howard, L. R. (1999). Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 47, 2109-2115.
- Thaiponga, K., Boonprakoba, U., Crosbyb, K., Zevallose, L. C., Byrnec, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.



Araştırma Makalesi (Research Article)

Differences in AChE and BChE Enzyme Activation Levels in Liver and Brain Tissues in Rainbow Trouts Exposed to Different Bacterial Diseases

Şükrü Önalın*¹, Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN²

¹Department of Fish Diseases, Fisheries faculty, Van Yuzuncu Yil University, 65080, Van, Turkey

²Department of Biochemistry, Science Faculty, Van Yuzuncu Yil University, 65080, Van, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-0058-5232> ²<https://orcid.org/0000-0003-0071-7434>

*Sorumlu yazar e-posta: sukruonalan@yyu.edu.tr

Article Info

Received: 04.01.2021

Accepted: 24.05.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.853386

Keywords

AChE,
Bacteria,
BChE,
Sequencing,
Rainbow trout,
Real-Time PCR.

Abstract: In this study, symptomatic fish samples were taken from rainbow trout farms. Isolation and identification of agents isolated from fish samples were made. DNA isolations from different purified colonies were carried out with the mericon bacterial DNA kit. Real-Time PCR procedure was performed by using universal bacterial primers. Molecular identifications were performed by blasting the nucleotides obtained by sequence analysis of PCR amplicons. Spectrophotometric measurements were performed at 412 nm wavelengths for AChE activity and 412 nm for BChE activity from liver and brain tissues of fish samples. The activity differences of different disease factors among themselves and according to the control group were examined. As a result of the study, isolation and identification of *Bacillus subtilis*, *Lactococcus garvieae* and *Staphylococcus epidermidis* from 5 different farms were performed. Over 98% similarity was observed as a result of sequencing analysis of the isolates. In this study, it was observed that three different bacteria isolated from trout farms suppressed AChE and BChE enzyme activities in both tissues of trout.

Farklı Bakteriyel Hastalıklara Maruz Kalmış Gökkuşığı Alabalıklarında Karaciğer ve Beyin Dokularında AChE ve BChE Enzim Aktivite Seviyesi Farklılıkları

Makale Bilgileri

Geliş: 04.01.2021

Kabul: 24.05.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.853386

Anahtar kelimeler

AChE,
Bakteri,
BChE,
Dizileme,
Rainbow trout,
Real-Time PCR.

Öz: Bu çalışmada, gökkuşığı alabalığı işletmelerinden semptomlu balık örnekleri alınmıştır. Balık örneklerinden etkenlerinin izolasyonu ve identifikasyonları yapılmıştır. Saflaştırılan farklı kolonilerden DNA izolasyonları mericon bacterial DNA kiti ile gerçekleştirilmiştir. Real-Time PCR prosedürü evrensel bakteriyel primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Moleküler identifikasyonlar PCR ampikonlarının dizi analizi ile elde edilen nükleotidlerin blastlaması ile gerçekleştirilmiştir. Balık örneklerinin karaciğer ve beyin dokularından AChE aktivitesi için 412 nm ve BChE aktivitesi için 412 nm dalga boylarında spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Farklı hastalık etkenlerinin kendi aralarında ve kontrol grubuna göre aktivite farklılıkları incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 5 farklı işletmelerin 3'ünden *Bacillus subtilis*, *Lactococcus garvieae* ve *Staphylococcus epidermidis* etkenlerinin izolasyonu ve identifikasyonları gerçekleştirilmiştir. İzolatların dizileme analizi sonucunda %98'in üzerinde benzerlik gözlenmiştir. Çalışmada, alabalık çiftliklerinden izole edilen üç farklı bakterinin her iki dokusunda da AChE ve BChE enzim aktivitelerini baskıladığı görülmüştür.

1. Introduction

As in the whole world, our country's aquaculture industry has entered a rapid development process and reached a production volume of 276 thousand 502 tons according to 2017 data. The most cultivated species in this production volume was rainbow trout, with 109 thousand 657 tons of production (TOB, 2019). Several factors negatively affect the rapid development process in aquaculture production, and infectious diseases come first. Growing fish intensively with a high population density increases the incidence of infections and causes the disease to spread quickly, settle, and continue for a more extended period. In addition, fish diseases have been reported to be affected by environmental factors, especially changes in water temperature (Balta et al., 2016). Vaccine and antibiotic applications play an essential role in preventing the entry of diseases to enterprises and treating diseases. However, these applications lead to some problems. Hundreds of tons of antimicrobials are used every year to prevent and treat bacterial infections in aquaculture. This situation causes the development of bacteria resistant diseases, accumulation of antibiotics in fish tissues and organs indirectly, and harmful results in terms of the aquatic environment and human health (Balta and Çağırđan, 2007).

External effects on metabolism in all living things cause some changes in enzyme systems. Because, enzymes are sensitive biocatalysts, most of which are in protein structure and carry out biochemical reactions (Massouliè et al., 1992; Chatonnet and Lockridge, 1989). Enzymes regulate the speed of many essential reactions for metabolic pathways in cells and increase the speed of reactions. In the central cholinergic system, it is a complex system in which cell bodies and dendrites operate with various enzymes. The cholinergic system is responsible for the transport of impulses between the central and peripheral nervous system cells. Cholinesterase's acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) are among the essential enzymes of the cholinergic system (Ryhänen, 1983; Ekholm, 2001). Therefore, it was aimed to determine the changes in the enzymes of the cholinergic system of different bacterial diseases.

2. Material and Methods

2.1. Sampling

The study was carried out with the decision of Van Yuzuncu Yil University, Animal Experiments Local Ethics Committee dated 31.01.2019, and numbered 2019/01. The sampling time of the study covers the date range of May-August 2018. The rainbow trout used in the study were selected from the enterprises that produce fry in Van province. For this purpose, 30 fishes, 6 of which were from 5 different establishments, were purchased. Fish that exhibited symptoms such as slowness in movements, separate swimming, darkening in color, symptoms such as bilateral exophthalmos, and such as swimming disorder, fin melting were selected as external symptoms. After the external surfaces of the sampled fish are disinfected with 70% ethanol, each fish sample is separated in separate locked bags. Fish samples were brought to the laboratory at +4 °C the same day with rubbermaid with a probe thermometer (Touraki et al., 2012).

2.2. Bacteria isolation

Bacteria isolations and molecular-based studies were carried out in Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Fisheries, Disease Laboratory. Enzyme studies were performed in Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Science, Biochemistry Laboratory. After necropsy performed under aseptic conditions, plantations were made from kidney and symptom fin tissues to TSA. The media were incubated at 21 and 37 °C for 24 hours (Austin and Austin, 2016).

2.3. Molecular identification

Real-Time PCR procedure was performed using 27F-1492R universal primers for the identification of bacteria. For this purpose, DNA isolations from bacteria were performed with mericon bacterial DNA kit (Qiagen). The purity of DNA was measured with a nano-

spectrophotometer (Thermo). Real-Time PCR was performed using DNA and universal primers isolated from bacteria (Inoue et al., 2005). DNA amplification was performed with a RotorGene Q 5Plex-HRM (Qiagen) at 95 °C for 10 min, followed by 45 cycles, each one divided into denaturation (94 °C, 45 sec), annealing (56 °C, 30 sec), and elongation (72 °C, 45 sec), plus a final elongation at 72 °C for 7 min (Metin et al., 2014).

2.4. Sequence analysis

After Real-Time PCR procedure performed for bacterial identification, sequence analysis was performed using the Sanger method using PCR amplicons and primer pairs. In line with the sequence data, the similarity rates were evaluated on the NCBI website. Nucleotide sequences are interpreted in CLC Workbench software (Zhu et al., 2014).

2.5. Biochemical analysis

Fish tissue samples were weighed and homogenized with phosphate buffer (50 mM KH₂PO₄ and 10 mM EDTA). Tissue samples homogenized with the homogenizer are 10 minutes at 3500 rpm centrifuged. After the centrifugation process, the liquid part was taken, and the analyses were done. Acetylcholinesterase and Butyrylcholine esterase levels were determined in the brain's homogenates, and liver tissues were taken from fish. Acetylcholinesterase and Butyrylcholine esterase activity analyses were performed according to the colorimetric method of Ellman et al. (1961). Cholinesterase catalyses the breakdown reaction of acetylthiocholine to thiocholine and acetate. 5-thio-2-nitrobenzoic acids, which turn yellow as a result of the reaction of DTNB with the thiocholine ratio released as a product, is formed. The absorbance values of the prepared mixes were read with a spectrophotometer at a wavelength of 412 nm (Yeltekin and Oğuz, 2018).

2.6. Statistical analysis

The results are expressed as mean ± standard error. The one-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple comparison tests were applied to the data, and the differences between the data were determined ($p < 0.05$). SPSS 20 software was used for statistical calculations (SPSS Inc., 2020).

3. Results

3.1. Bacteria isolation

It was observed that the water temperature varied between 15-17 °C during sampling. Fish samples were selected from fish that were left alone in the aquaculture ponds, floating outside of the flock, darkening in colour, and shaped by exophthalmos in the eyes. In the necropsy procedure performed after sampling, samples were taken from kidney and symptom fin tissues. Planting was performed on TSA and BA media from kidney and symptom fin tissues taken during necropsy. Colonies that developed after a 24-hour incubation period at 37 °C were purified again. The medium images of the purified isolates are given below (Figure 1).



Figure 1. Bacterial disease factors isolated from rainbow trout farms (A: *L. garvieae*, B: *B. subtilis*, C: *S. epidermidis*).

No bacterial growth was observed in 2 of 5 different farms. From other farms, respectively; The factors of *L. garvieae* from farm 3, *L. garvieae*, and *B. Subtilis* from farm 4 and *S. epidermidis* from farm 5 were isolated.

3.2. Molecular identification and sequence analysis

DNAs obtained from isolated bacterial agents were used as templates in Real-Time PCR. Real-Time PCR procedure was performed to identify the isolates. Real-Time PCR results with Universal (27F-1492R) primers are given below (Figure 2).

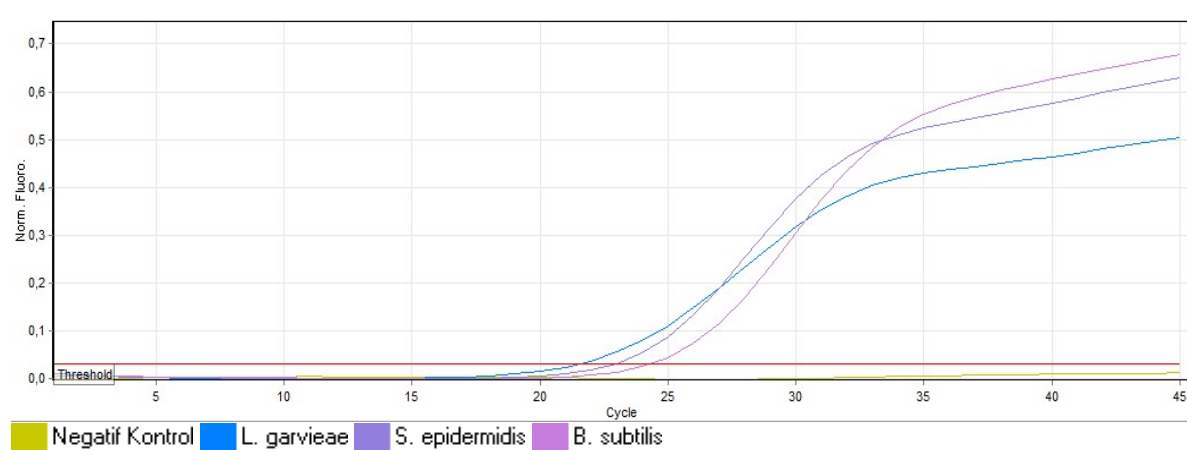


Figure 2. Real-Time PCR image performed with bacterial DNAs isolated in the study (Sigmoidal curves positive, negative control sample below the threshold value).

In line with Real-Time PCR results, it was observed that bacterial DNAs gave positive results in SYBRGreen-based fluorescent irradiation by binding with universal primers. According to the results of sequence analysis of Real-Time PCR amplicons obtained by Sanger One Way sequencing; Among the bacteria isolated in the study, *B. subtilis* were similar with 97.88%, *S. epidermidis* 98.67% and *L. garvieae* 90.77% (Figure 3).

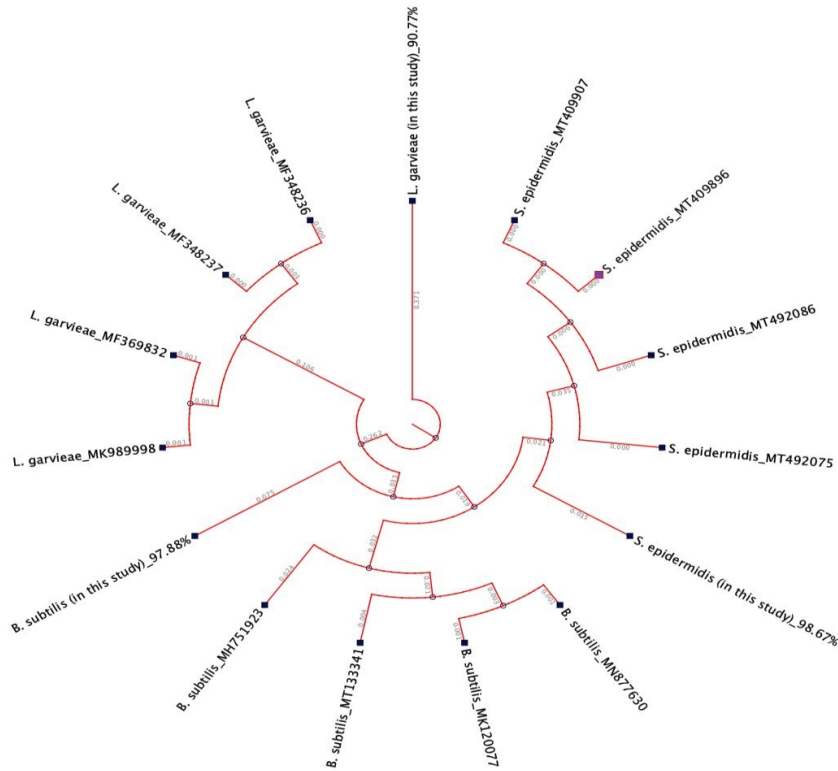


Figure 3. Sequence identifications of isolated bacteria and their closeness to the closest sequences.

These results also show similarity rates between the isolates in the same area isolated. As a result of the Blast process of the nucleic acid sequence performed on NCBI and CLC web bases, all of the isolated bacteria had 97-99% sequence overlap.

3.3. Enzyme activity results

When the graphic of brain tissue AChE levels change in infected fish was examined, the change of AChE levels among other infected fish groups of control group fish was found to be statistically significant ($p < 0.05$). It was determined that the brain tissue AChE enzyme activity of infected fish decreased significantly compared to the control group fish (Fig. 4).

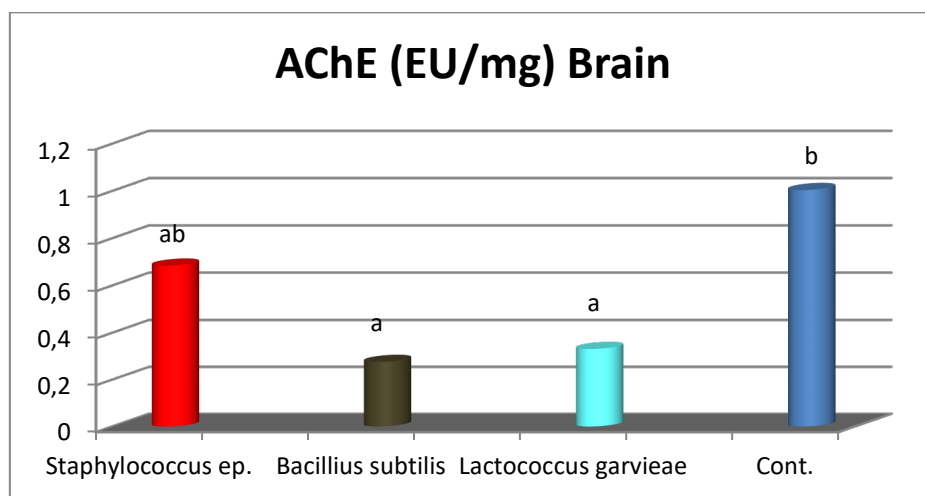


Figure 4. Change of brain tissue AChE levels in infected fish ($p < 0.05$).

When the liver tissue AChE levels change of infected fish was examined, it was observed that all three bacterial species showed a significant decrease compared to the control group. It was determined that there was a significant decrease in the fish with *Staphylococcus epidermidis* bacteria (Figure 5).

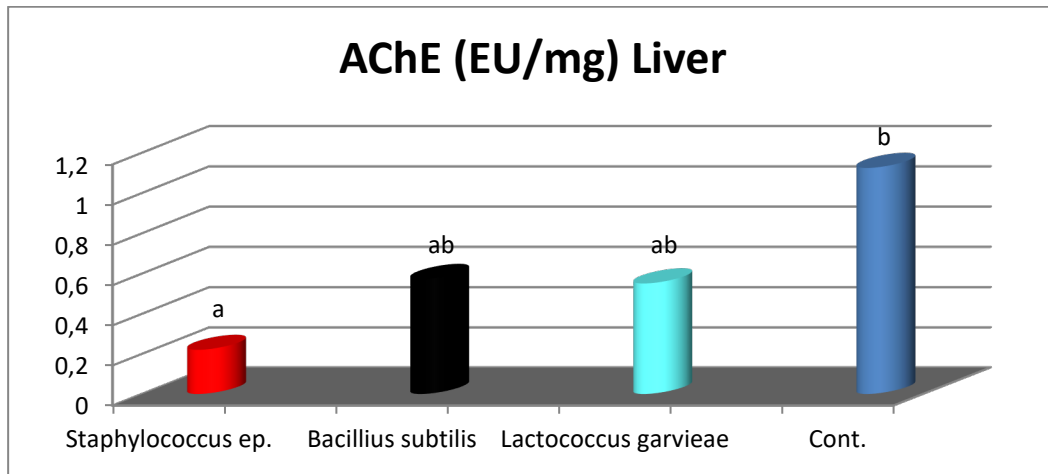


Figure 5. Change of liver tissue AChE levels in infected fish ($p < 0.05$).

The change in brain tissue BChE levels in all of three bacterial infection groups in fish showed a statistically significant change ($p < 0.005$). It has been observed that the BChE level of trout with *L. garvieae* bacteria decreased more than other groups (Figure 6).

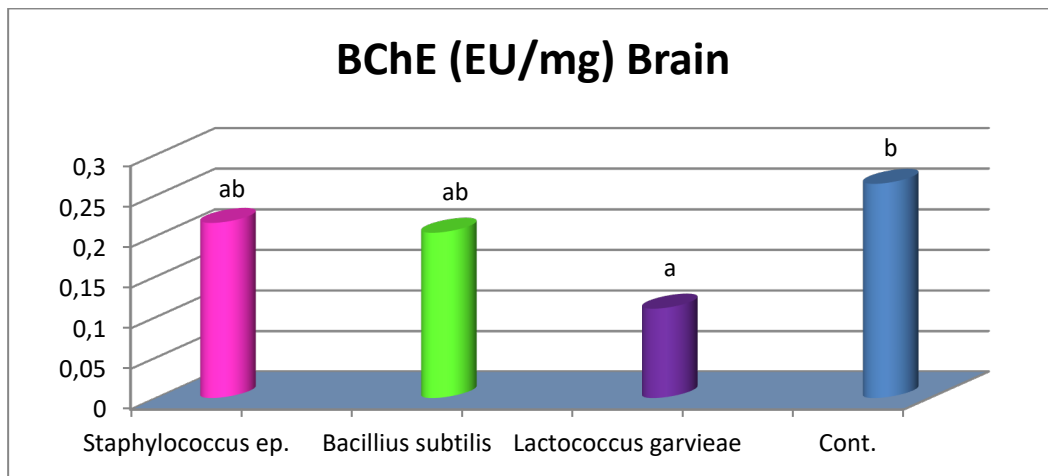


Figure 6. Change of brain tissue BChE levels in infected fish ($p < 0.05$).

When the liver tissue BChE level change graph was examined, it was found that the enzyme levels of infected trout groups showed a statistically significant decrease. As in brain tissue, it was observed that the trout with *L. garvieae* bacteria was lower in BChE levels than in other groups (Fig. 7).

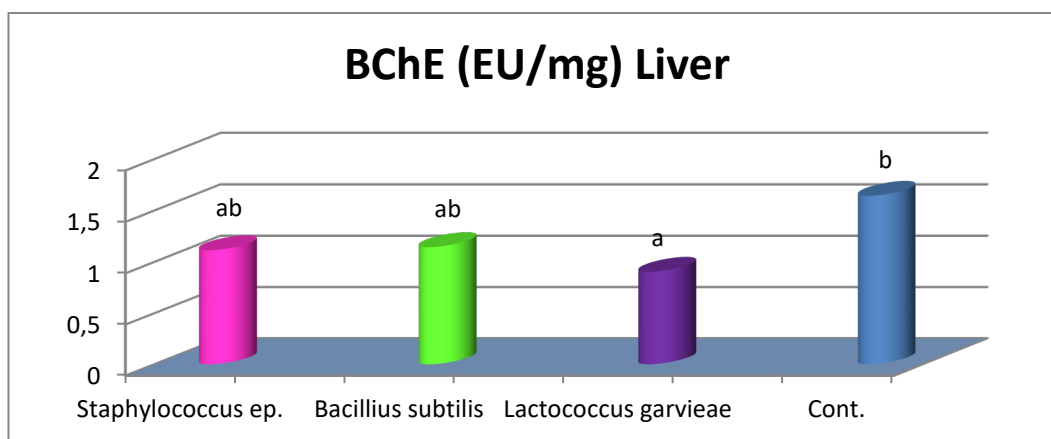


Figure 7. Change of liver tissue BChE levels of infected fish ($p < 0.05$).

4. Discussion and Conclusion

Infections occurring in the aquaculture sector cause economic losses. It has been reported that bacterial pathogens are responsible for 54.9% of these infections, viruses for 22.6%, mycotic for 3.1%, and parasitic agents for 19.4% (Dhar et al., 2014). It is reported that *L. garvieae* is among the most important factors in bacterial studies carried out in the field of aquaculture. The isolation and identification period of the disease agents is essential for the ongoing diseases' treatment process (Balta and Dengiz Balta, 2019).

Nowadays, DNA-RNA isolations performed with automated robots can be performed in a much shorter time than manual studies. The fast and reliable isolation of DNA and RNA before PCR analysis is also essential for the accuracy. It has been reported by some researchers that the studies performed with automatic isolation robots create more reliable and pure isolations (Pinchi et al., 2013). In this study, the QIAcube DNA-RNA-Protein isolation robot was used in the isolation method. The purity degree of all of the isolated DNA was found between 1.8-2.0, and the subsequent PCR process was started. Today, the first methods that come to mind in terms of rapid diagnosis are among the molecular methods performed by Real-Time PCR. The PCR method is preferred by most researchers in that it provides fast results and is more reliable than other methods (Das et al., 2016). In this study, bacteria-specific universal primers were used. The same universal primers have been reported by many researchers carrying out bacterial studies (Nadkarni et al., 2002). After PCR analysis, identification of the bacteria isolated in the study was performed by sequence analysis. As a result of the study, *L. garvieae*, *B. subtilis*, and *S. epidermidis* agents were isolated. Thanks to the identification of the factors with the sequence, identification can be made among all the species available in the gene bank. Among the sequence methods, NGS is reported as the newest technology, but it is also known as the costliest technique. Among other methods, the sanger method is also reliable and is applied at more affordable price ranges (Al-Hebshi et al., 2015).

The increase in acetylcholine levels in the cholinergic system contributes to the neuromodulation in the neurological system, explaining the formation of the proposed synapses in the cerebral cortex and cerebellum (Schwertz et al., 2016). AChE and BChE changes of juvenile Silver catfish (*Rhamdia quelen*) fish infected with *A. hydrophila* were investigated. In the study, it was stated that the infection affects the cholinergic system and reduces AChE and BChE levels (Baldissera et al., 2016). A study has been conducted to evaluate whether the bovine infected with *L. monocytogenes* has altered the cholinesterase activity and to modulate its neurotransmission. In the study, it was determined that Acetylcholine level increased, Acetylcholine esterase level decreased. It has been stated that enzyme inhibition may cause this condition (Jaguezeski et al., 2018). Baldissera et al., (2018) found that neurological enzymes are reduced in the cerebral fluids of silver catfish infected with *Streptococcus agalactiae* associated with the central nervous system. It is seen that the results of our study are compatible with other studies in the literature.

AChE has anti-inflammatory effects. It is reported by Das (2007) that this reduction in AChE activity is a probable proinflammatory response of metabolism and may result from less AChE

hydrolysis to reduce tissue damage. Also, some fish species have been found to have no BChE enzyme (Chuiko, 2000). There are very few studies on the cholinergic system in infected fish. In this study, it was found that cholinergic system enzymes (AChE and BChE) started to decrease in the brain and liver tissues of rainbow trout infected with three different bacterial species (*Staphylococcus* spp., *B. subtilis* and *L. garvieae*). As a result; It can be thought that the cholinergic system enzymes of trout-infected trout have undergone denaturation or inhibition or reduced the enzyme secretions due to the anti-inflammatory properties of the cholinergic system.

References

- Al-Hebshi, N. N., Nasher, A. T., Idris, A. M. & Chen, T. (2015). Robust species taxonomy assignment algorithm for 16S rRNA NGS reads: application to oral carcinoma samples. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), 289-34.
- Austin, B. & Austin, D. A. (2016). *Bacterial fish pathogens. 6. th edition*. Springer International Publishing, Switzerland, 82-721.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Doleski, P. H., Júnior, G. B., Vargas, A. C., & Baldisserotto, B. (2016). Involvement of cholinergic and purinergic systems during the inflammatory response caused by *Aeromonas hydrophila* in *Rhamdia quelen*. *Microbial Pathogenesis*, 99, 78-82.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Santos, R. C. V., & Baldisserotto, B. (2018). *Streptococcus agalactiae* alters cerebral enzymes of phosphoryl transfer network in experimentally infected silver catfish: Impairment on brain energy homeostasis. *Aquaculture*, 489, 105-109.
- Balta, F., & Çağırın, H. (2007). Determination of residue in muscle and skin of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) after oxytetracycline treatment. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 24(1-2), 173-178.
- Balta, F., Dengiz Balta, Z., Özgümüş, O. B. & Çağırın, H. (2016). The Antimicrobial resistance and investigation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the Eastern Black Sea Region. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 1(3), 72-76.
- Balta F. & Dengiz Balta, Z. (2019). The isolation of *Lactococcus garvieae* from eyes of diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exophthalmia. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(1), 27-33.
- Chatonnet, A., & Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochem J*, 260, 625-634.
- Chuiko, G. M. (2000). Comparative study of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in brain and serum of several freshwater fish: specific activities in vitro inhibition by DDVP, an organophosphorus pesticide. *Comp Biochem Physiology Part C*, 127, 233-242.
- Das, U. N. (2007). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. *Med Sci Monit*, 13, 214-221.
- Das, P., Pandey, P., Harishankar, A., Chandy, M., & Bhattacharya, S. (2016). A high yield DNA extraction method for medically important *Candida* species: A comparison of manual versus QIAcube based automated system. *Indian journal of medical microbiology*, 34(4), 533.
- Ekholm, M. (2001). Predicting relative binding free energies as substrate and inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase. *Theo chem*, 572, 25-34.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., & Andres, V. J. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*, 7, 88-95.
- Inoue, D., Wada, K., Sei, K., Ike, M., & Fujita, M. (2005). Comparative evaluation of quantitative polymerase chain reaction methods for routine enumeration of specific bacterial DNA in aquatic samples. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1029-1035.
- Jaguezeski, A. M., Perin, G., Rhoden, L. A., Da-Silva, T. M. A., Mendes, R. E., & Bottari, N. B. (2018). Changes on the activity of cholinesterase's in an immunomodulatory response of cattle infected by *Listeria monocytogenes*. *Microbial Pathogenesis*, 114, 36-40.
- Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., & Valette, F. M. (1992). Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Neurobiology*, 41, 31-91.
- Metin, S., Kubilay, A., Onuk, E. E., Didinen, B. I., & Yildirim, P. (2014). First isolation of *Staphylococcus warneri* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 34(5), 165-174.

- Nadkarni, M. A., Martin, F. E., Jacques, N. A., & Hunter, N. (2002). Determination of bacterial load by Real-Time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*, 148(1), 257-266.
- Pinchi, V., Focardi, M., Martinelli, D., Norelli, G. A., Carboni, I., Gozzini, A., & Ricci, U. (2013). DNA extraction method from teeth using QIAcube. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 4(1), 276-277.
- Ryhänen, R. J. J. (1983). Pseudocholinesterase activity in some human body fluids. *Gen Pharmacol*, 14, 459-460.
- Schwartz, C. I., Do-Carmo, G. M., Bottari, N. B., Da-Silva, E. S., Gabriel, M. E., & Da-Silva, A. S. (2016). Relationship between pathological findings and cholinesterase activity and nitric oxide levels in cattle infected naturally by *Eurytrema coelomaticum*. *J Comp Pathology*, 154, 150-156.
- SPSS Inc., (2020). IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- TOB, 2019. Tarım ve Orman Bakanlığı, Su ürünleri sektör politika belgesi. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Su%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Sekt%C3%B6r%20Politika%20Belgesi%202019-2023.pdf>. Erişim tarihi: 01.03.2021, saat:16:03.
- Touraki, M., Karamanlidou, G., Karavida, P., & Chrysi, K. (2012). Evaluation of the probiotics *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* bioencapsulated in *Artemia nauplii* against vibriosis in European sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*, L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(6), 2425-2433.
- Yeltekin, A. Ç., & Oğuz, A. R. (2018). Antioxidant responses and DNA damage in primary hepatocytes of Van fish (*Alburnus tarichi*, Gùldenstadt 1814) exposed to nonylphenol or octylphenol. *Drug and Chemical Toxicology*, 41, 415.
- Zhu, L., Shen, D. X. Zhou, Q., Liu, C. J. Z., Li, X., Fang, Q., & Li, Z. (2014). Universal Probe Library based real-time PCR for rapid detection of bacterial pathogens from positive blood culture bottles. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(3), 967-975.



Research Article (Araştırma Makalesi)

Characterization of Iranian Olive Oils based on Biophenolic Minor Polar Compounds and their Contribution to Organoleptic Properties

Forough SHAVAKHI ^{*1}, Anosheh RAHMANI ², Parviz MORADI ³

¹Agricultural Engineering Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

²Department of Food, Halal and Agricultural Products, Food Technology and Agricultural Products Research Center, Standard Research Institute (SRI), Karaj, Iran

³Research Division of Natural Resources, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Centre, AREEO, Zanjan, Iran

¹<https://orcid.org/0000-0002-6635-2629> ²<https://orcid.org/0000-0003-0795-992X> ³<https://orcid.org/0000-0003-3340-7619>

*Corresponding author e-mail: f.shavakhi@areeo.ac.ir

Article Info

Received: 15.02.2021
Accepted: 11.05.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.880140

Keywords

Chemometric analysis,
Olive oil,
Phenolic compounds,
Principal Component
Analysis (PCA),
Quality,
Sensory analysis.

Abstract: The presence of several minor compounds, such as biophenols, are associated with the quality, health benefits and sensory characteristics of olive oil. The objectives of this study were to compare the profile of the individual phenolic compounds of major brands of olive oils produced in Iran and to correlate the minor polar biophenolic compounds with sensorial properties and finally discriminate the samples. In order to define similarities and differences between Iranian virgin olive oils, profiles of their biophenolic compounds have been investigated using HPLC, analysis of variances and principal component analysis (PCA). Samples of olive oil were notably varied in terms of individual biophenolic compounds and total phenolic content (TPC). Hydroxytyrosol, tyrosol, oleuropein, luteolin, apigenin, and ligstroside aglycone (aldehyde and hydroxylic form) were detected in all samples, whereas caffeic acid was not found in any brands. Based on the differentiating made by PCA, samples were categorized into two distinct groups (TPC<300 and TPC>300 mg tyrosol/kg of olive oil). The analysis of the main components resulted in a model that describes 86% of the total variance discriminating them from the minor biophenolic compounds of the examined olive oils. This analysis can be considered for assessing the quality and commercial needs related to preferences on olive oil.

İran Zeytinyağlarının Biyofenolik Minör Polar Bileşiklerine Göre Karakterizasyonu ve Organoleptik Özelliklere Katkıları

Makale Bilgileri

Geliş: 15.02.2021
Kabul: 11.05.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.880140

Anahtar kelimeler

Kemometrik analiz,
Zeytin yağı,
Fenolik bileşikler,

Öz: Biyofenoller gibi birkaç küçük bileşiğin varlığı, zeytinyağının kalitesi, sağlık üzerine yararları ve duyuşal özellikleriyle ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı, İran'daki başlıca zeytinyağı markalarının bireysel fenolik bileşiklerinin profilini karşılaştırmak ve küçük polar biyofenolik bileşikleri duyuşal özelliklerle ilişkilendirmek ve son olarak örnekleri ayırt etmektir. İran sızma zeytinyağları arasındaki benzerlik ve farklılıkları tanımlamak için, bunların biyofenolik bileşiklerinin profilleri HPLC, varyans analizi ve temel bileşen analizi (PCA) kullanılarak incelenmiştir. Zeytinyağı numuneleri, ayrı ayrı biyofenolik bileşikler ve toplam fenolik içerik (TPC) açısından önemli ölçüde farklıydı. Tüm örneklerde hidroksitirozol, tirozol, oleuropein, luteolin, apigenin ve ligstrosit aglycone (aldehit

Ana Bileşen Analizi (PCA),
Kalite,
Duyusal analiz.

ve hidroksilik form) tespit edilirken, hiçbir markada kafeik asit bulunmadı. PCA ile yapılan farklılaştırmaya dayalı olarak, numuneler iki farklı gruba ayrıldı (TPC <300 ve TPC > 300 mg tirozol / kg zeytinyağı). Ana bileşenlerin analizi, onları incelenen zeytinyağlarının küçük biyofenolik bileşiklerinden ayıran toplam varyansın % 86'sını tanımlayan bir modelle sonuçlandı. Bu analiz, zeytinyağı tercihleriyle ilgili kalite ve ticari ihtiyaçları değerlendirmek için düşünülebilir.

1. Introduction

One of the healthiest components of the Mediterranean diet is olive oil. Olive oil consumption is increasing all around the world subsequent to the growing the Mediterranean diet. Consequently, consumers should be aware of the quality aspects of the oils to have the best choice. The health benefits of olive oil not only relate to the high monounsaturated fat content, but also depends on several minor compounds such as bio phenols. Olive oil consists of 98% fatty acids, mainly oleic acid (C18:1), and 2% other minor components, including squalene, pigments, tocopherols, waxes, and the polar fraction. Phenolic compounds are located in this polar fraction which is a complex mixture of phenolic acids, simple phenols and their derivatives, lignans, and flavones (Tresserra-Rimbau and Lamuela-Raventos, 2017). Phenolic compounds of olive oils have a crucial rule, as these compounds have the health profits, effect on the organoleptic attributes such as bitterness, astringency and oxidative stability of oils (Pandey and Rizvi, 2009; García-González et al., 2010; Squeo et al., 2019, Rodríguez-López et al., 2020). Furthermore, phenolic fraction of olive and olive oil act as antioxidant and radical scavenger with anti-carcinogenic, anti-inflammatory, anti-atherogenic, and anti-microbial activities properties due to the health-promoting attributes (Lerma-García et al., 2009; Servili et al., 2014; Tresserra-Rimbau and Lamuela-Raventos, 2017).

Several statistical methods were used to analyze the data of the quality attributes of olive oil. Among them, principal component analysis (PCA) is a powerful pattern recognition technique which has been used for analyzing and classifying different products (García-González et al., 2010; Shavakhi et al., 2011). Consequently, it has been successfully applied in the following areas: for data analysis of olive oil such as discriminating between olive oil produced in three Italian geographical areas based on quality parameters including phenols (Ranalli et al., 2000), for interpreting the behavior of the virgin olive oil profile of phenols and volatiles regarding olive cultivar and ripeness (García-González et al., 2010), classification of Iranian olive oils based on the fatty acids (Piravi-Vanak et al., 2012; Shavakhi et al., 2020), unsupervised grouping of individual phenolic contents of olive oil samples by crop year (Rodrigues et al., 2019), extending multivariate models to discriminate the virgin olive oils with low and high total phenolic content (Squeo et al., 2019), and discrimination of olive oils according to phenolic compounds and antioxidant potencies (Amanpour et al., 2019).

It also would be worthwhile to categorize the olive oil brands, to gain consumer insights on the importance of quality attributes, and variables which affect these properties. Thus, it is necessary to classify the different brands of olive oil based on their variables. To our knowledge, there is no data on the classification of different brands of Iranian olive oils based on biophenolic compounds. Therefore, the objectives of this study were to compare the individual phenolic compound of olive oils produced in Iran and to discriminate of different oils with various geographical origins, to correlate of these compounds to organoleptic properties, and also discrimination of samples based on the biophenolic minor polar compounds using PCA.

2. Material and Methods

Eleven Iranian virgin olive oil (VOO) samples were collected from November 2017 to March 2018 from six major producing provinces of olive oil. Characteristics of climate regions for sampling the olive oils are shown in Table 1. In terms of weather condition, Golestan, Qazvin, Gilan and Zanzan provinces have the Mediterranean climate, but Fars and Qom provinces have cold semi-arid and dry desert climate respectively. These provinces and samples were Golestan (Go₁, Go₂, and Go₃), Qazvin (Qa₁, Qa₂, and Qa₃), Zanzan (Z₁, Z₂), Gilan (G), Fars (F), and Qom (Q). Cluster random sampling was used and more samples were collected from the provinces with more factories. These oils were either

purchased or donated by the manufacturers. The suppliers guaranteed the geographical origin and quality grade of all the samples. Samples were kept in dark glass bottles at room temperature (22±2°C) prior to conducting the experiments. Tyrosol and syringic acid were purchased from (Sigma-Aldrich, Boston, USA). All reagents were analytical grade and were purchased from Merck (Berlin, Germany) and Sigma-Aldrich (Boston, USA).

Table 1. Characteristics of climate regions for sampling of the olive oil in Iran

Province	Minimum Temperature (°C)	Maximum Temperature (°C)	Longitude	Latitude	Elevation (m)
Golestan	12.8	22.7	55.38	37.23	155
Qazvin	6.9	21.2	49.99	36.31	1297
Zanjan	4	18	48.96	36.92	1638
Gilan	11.3	20.6	50.01	37.20	36.7
Fars	9.8	25.6	52.53	29.61	1519
Qom	10.2	25.9	50.88	34.65	932

2.1. Determination of acidity, peroxide and extinction coefficient

To confirm the quality grade of the samples, these analyses were conducted. All measures were determined using IOC methods (IOC, 2018b). Briefly, the titration method using potassium hydroxide solution was employed for free fatty acid (% oleic acid) quantification; the titration method using thiosulfate 0.01 N was used for peroxide value (meq O₂ kg⁻¹); a spectrophotometric method using cyclohexane as reagent was employed for extinction coefficient determination at 232 and 270 nm (k₂₃₂, k₂₇₀).

2.2. HPLC analysis

The official method of the International Olive Council (IOC, 2017) was used for detection and quantification of biophenolic compounds of olive oil. Extraction of the biophenolic compounds was performed using 2.0 g of olive oil that was weighed in a 10 mL test tube, and of 1 mL of internal standard (syringic acid, 0.015 mg/mL) was added to the olive oil. Then mixture was sealed with screw cap and shaken for 30 sec. Afterward, 5 mL of the methanol/water 80/20 (V/V) was added and was shaken for 1 min. The mixture was placed in the ultrasonic bath for 15 min at room temperature; subsequently it was centrifuged for 25 min (5000 rpm). An aliquot of the supernatant was filtered with a 0.45 mm PVDF filter, and subsequently injected into HPLC.

The analysis was conducted on a HPLC (Young-Lin, Acme 9000, South Korea) with Spherisorb ODS-2 column (4.6 x 250 mm, dp= 5 µm) and UV-Vis detector at 280 nm. The chromatography column conditioned for at least 15 min with gradient elution of water 0.2 % H₃PO₄ (V/V), methanol and acetonitrile 96/2/2 (v/v/v) and 20 µL of the external standard solution (tyrosol 0.03 mg/mL and syringic acid 0.015 mg/mL) was injected into the HPLC system and the chromatogram was recorded at 280 nm. The value of response factor (RF) for 1µg of tyrosol, 1µg of syringic acid and the ratios between two response factors (RRF) were calculated as follows (1-3):

$$RF_{1\mu g}(\text{syringic acid}) = \text{Area of syringic acid} / \mu\text{g of syringic acid injected} \quad (1)$$

$$RF_{1\mu g}(\text{tyrosol}) = \text{Area of tyrosol} / \mu\text{g of tyrosol injected} \quad (2)$$

$$RRF_{\text{syr/tyr}} = RF_{1\mu g}(\text{syringic acid}) / RF_{1\mu g}(\text{tyrosol}) \quad (3)$$

The injection volume was 20 µL and chromatograms were recorded at 280 nm. All analyses were carried out at room temperature. The amounts of phenolic compounds were calculated according to the following equation (4):

$$\left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{(A) \times 1000 \times RRF_{\text{syr}}^{\text{tyr}} \times (W \text{ syr. acid})}{(A \text{ syr. acid}) \times (W)} \quad (4)$$

In the equation, (A) is the peak areas of the biophenols (hydroxytyrosol, tyrosol, natural and oxidised oleuropein and ligstroside derivatives, lignans, flavonoids and phenolic acids) recorded at 280 nm; (A syr. Acid) is the area of the syringic acid internal standard; 1000 is the factor used to express the result in mg/kg; (W) is the weight of the oil used, in grams; (RRFsyr/tyr) is the multiplication coefficient for expressing the final results as tyrosol; (W syr. Acid) is the weight of the syringic acid used as internal standard in 1 ml of solution added to the sample in mg. The sum of the areas of the individual peaks (ΣA) was used to calculate the total content of all individual compounds quantified.

2.3. Sensory analysis

Sensory evaluation was performed by a group of eight trained tasters and coordinated by a panel leader. Scores of positive sensory attributes (fruity, bitter, and pungent) and negative sensory attributes were given to the olive oil samples based on IOC method (IOC, 2018a).

2.4. Statistical analysis

Phenolic compounds data were analyzed using the analysis of variances (ANOVA) and principal component analysis (PCA). Data of individual phenols were subjected to ANOVA to evaluate the significant differences between the brands. The differences among the means were determined using Duncan's multiple range tests with 95% confidence interval. The correlations between variables were evaluated using Pearson's coefficients. PCA was used for interpreting the behaviour of the profiles of VOO phenols with respect to oil samples. Minitab v. 16 statistical package (Minitab Inc., Pennsylvania, USA) was used for carrying out the statistical analyses. The experiments were carried out in triplicate.

3. Results and Discussion

According to the international standard of IOC (2018b), acidity of all samples was within the range of extra virgin olive oil (less than 0.8%) except for Fars and Golestan (F, Go₃) as ordinary and virgin olive oil with the acidity of 2.59±0.3 and 1.75±0.3 respectively. Also, peroxide values and delta extinction coefficients (Δk) of all samples were in accordance with the IOC standard (less than 20 meqO₂/kg and ≤ 0.01 of oil respectively). According to the results of sensory analysis (Table 2), all examined olive oils were in extra VOO (EVOO) category with no defect and fruity score of more than zero, except for Q and F samples which showed fusty and musty defects, respectively. Q sample with fusty defect median of 0.6, and median of fruity above zero and F sample with musty defect median of 1.1 categorized as virgin olive oil (VOO). Fusty and musty are defects of olive oil and define as characteristic flavor of olive oil as a result of anaerobic fermentation and also long storage in humid condition or earth or mud with high amounts of fungi and yeasts, respectively (IOC, 2018a).

Table 2. Results of panel test of Iranian olive oil samples*

Sample Code	Fruity	Pungent	Bitter	Defect	Defect Specification
Q	2.2	2	1.7	0.6	Fusty
G	2.6	0.7	0.5	0	-
Go ₁	2	1	1.8	0	-
Go ₂	3.5	1.5	0	0	-
Go ₃	1	1.5	1.4	0	-
Z ₁	1.9	1.4	1	0	-
Z ₂	2.65	2.9	2.5	0	-
Qa ₁	1.5	1	0.8	0	-
Qa ₂	2.1	1.7	0.25	0	-
Qa ₃	3.3	1.7	1.25	0	-
F	0	0.7	0.1	1.1	Musty

*Data expressed as median value.

Table 3-Phenolic compounds of different samples of Iranian Olive oil-mean (sd) (mg/kg)

Sample code	Go ₁	Go ₂	Go ₃	Qa ₁	Qa ₂	Qa ₃	Z ₁	Z ₂	G	Q	F
Hydroxytyrosol	11.82(1.51) ^{de}	9.43(0.81) ^c	9.86(1.61) ^{cd}	14.77(0.99) ^f	1.72(0.51) ^a	12.70(1.2) ^{ef}	17.61(1.82) ^g	12.83(1.91) ^{ef}	3.48(1.55) ^{ab}	15.01(1.01) ^f	4.41(0.6) ^b
Tyrosol	19.05(1.54) ^e	17.92(1.1) ^c	9.82(1.55) ^{bc}	11.19(0.93) ^{cd}	2.05(0.16) ^a	7.82(1.54) ^b	13.34(1.60) ^d	7.73(1.14) ^b	2.11(0.95) ^a	12.92(0.96) ^d	3.09(0.96) ^a
Vanilic acid	9.75(0.87) ^c	3.45(0.47) ^c	ND	ND	7.41(0.68) ^d	ND	ND	ND	0.5(0.06) ^a	1.74(0.52) ^b	ND
Caffeic acid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Vanillin	1.37(0.27) ^b	ND	6.54(0.49) ^d	ND	5.53(0.5) ^c	ND	9.41(0.67) ^f	ND	ND	7.437(0.70) ^c	ND
<i>Para</i> -Cumaric acid	2.37(0.14) ^b	ND	ND	4.55(0.08) ^c	ND	ND	ND	14.56(0.53) ^e	2.29(0.24) ^b	ND	8.53(0.06) ^d
Hydroxytyrosol acetate	4.16(0.73) ^d	ND	ND	ND	6.26(0.29) ^e	7.32(0.23) ^f	5.81(1.09) ^e	11.21(0.78) ^g	1.61(0.16) ^b	2.91(0.01) ^c	ND
Ferrulic acid	1.52(0.04) ^b	2.67(0.67) ^b	5.29(0.06) ^c	ND	13.38(0.73) ^f	ND	10.53(0.63) ^c	16.41(0.94) ^g	ND	8.04(0.66) ^d	ND
<i>Ortho</i> -Cumaric acid	2.71(0.63) ^b	5.78(0.15) ^c	11.93(0.61) ^c	6.41(0.54) ^c	ND	2.19(0.87) ^b	ND	17.47(0.70) ^f	10.96(0.87) ^c	ND	9.55(1.07) ^d
Decarboxymethyl Oleuropein aglycone ¹	6.99(0.63) ^b	ND	6.67(0.18) ^b	25.59(1.79) ^d	ND	13.87(1.06) ^c	30.41(2.17) ^e	50.21(3.18) ^f	ND	28.73(0.88) ^c	7.39(0.61) ^b
Oleuropein	2.42(0.64) ^a	27.56(1.06) ^f	1.71(0.43) ^a	6.65(1.14) ^{cd}	6.22(0.06) ^{cd}	5.06(0.35) ^{bc}	4.55(0.49) ^b	2.50(0.04) ^a	33.08(1.04) ^g	6.15(0.14) ^{cd}	9.64(1.07) ^c
Oleuropein aglycone ¹	ND	5.35(0.07) ^c	ND	ND	2.8(0.05) ^b	ND	ND	14.51(0.16) ^d	5.64(0.76) ^c	2.08(0.36) ^b	5.39(0.05) ^c
Tyrosol acetate	ND	5.82(0.81) ^c	ND	8.59(0.86) ^d	ND	ND	5.16(0.79) ^c	8.19(0.67) ^d	4.88(0.51) ^c	ND	2.67(0.52) ^b
Decarboxymethyl ligstroside aglycone ²	0.863(0.53) ^a	ND	ND	2.99(0.29) ^b	39.44(2.48) ^b	32.38(0.63) ^b	ND	95.26(1.65) ^c	ND	1.10(0.49) ^a	0.86(0.08) ^d
Decarboxymethyl ligstroside aglycone ¹	0.86(0.41) ^a	ND	ND	2.99(0.29) ^b	39.44(0.36) ^d	32.38(1.01) ^c	ND	95.26(1.1) ^c	ND	1.10(0.48) ^a	0.86(0.26) ^a
Pinoresinol ¹	7.68(0.21) ^c	ND	23.36(1.05) ^d	33.39(1.19) ^c	ND	ND	24.30(1.15) ^d	ND	ND	62.09(1.04) ^f	4.25(0.43) ^b
acetoxy pinoresinol	3.26(0.43) ^b	17.27(0.05) ^f	9.14(0.79) ^c	ND	ND	26.44(0.9) ^g	ND	ND	12.26(0.30) ^c	2.40(0.61) ^b	11.09(0.92) ^d
Cinnamic acid	ND	78.43(3.76) ^c	ND	ND	8.64(0.59) ^b	1.05(0.04) ^a	19.82(1.12) ^c	ND	61.54(0.58) ^d	ND	9.06(0.16) ^b
Ligsteroid aglycone ¹	4.8(0.95) ^b	13.00(0.40) ^c	1.35(0.24) ^a	4.7(0.11) ^b	15.14(0.88) ^d	4.7(0.81) ^b	4.64(0.08) ^b	27.98(1.86) ^f	24.92(1.71) ^c	13.07(0.48) ^c	11.61(1.59) ^c
Oleuropein aglycone ³	4.64(0.08) ^{cd}	2.56(0.66) ^b	2.18(0.92) ^b	ND	22.57(1.15) ^g	4.21(0.37) ^c	29.82(0.54) ^h	6.50(0.54) ^c	4.87(0.67) ^{cd}	17.20(0.10) ^f	5.55(0.49) ^{dc}
Apigenin	2.42(0.14) ^{ab}	6.28(1.01) ^{cd}	5.96(0.07) ^{cd}	24.60(4.50) ^f	2.16(0.47) ^{ab}	3.95(0.56) ^{bc}	28.83(1.70) ^g	4.89(0.52) ^{bcd}	7.50(1.03) ^d	0.1(0.02) ^a	11.13(0.81) ^c
Ligstroside aglycone ³	4.41(0.63) ^d	20.35(1.09) ^f	2.87(0.19) ^{bc}	2.24(0.79) ^{ab}	7.08(0.10) ^c	3.91(0.22) ^{cd}	1.27(0.20) ^a	27.82(1.47) ^g	3.89(0.38) ^{cd}	3.77(0.51) ^{cd}	4.4(0.64) ^d
Total phenol	135.03(5.49) ^a	276.04(14.70) ^c	140.25(3.52) ^a	186.35(8.25) ^b	207.29(10.40) ^c	139.71(8.50) ^a	248.87(10.9) ^d	354.53(11.12) ^f	221.85(9.94) ^c	239.94(8.49) ^d	144.98(6.04) ^a

1=(Dialdehyde form), 2=(Oxidized dialdehyde form), 3=(Aldehyde and hydroxylic form).

Table 4- Pearson coefficients of different phenolic compounds of olive oil

	Hydroxytyrosol	Tyrosol	Vanilic_acid	Vanillin	p_cumaric_acid	Hydroxytyrosol_acetate	Ferrulic_acid	o_cumaric_acid	d_m_oleuropein_a	Oleuropein	OAD_form	Tyrosol_acetate	D_ligstAo	DLAD_form	Ligsteroid_AgDform	Luteolin	OAAHform	Ligstroside_AAHform	Total_phenol
Hydroxytyrosol	-																		
Tyrosol	.647**	-																	
Vanilic acid	-0/259	0/311	-																
Vanillin	0/279	0/129	0/034	-															
p_cumaric_acid	-0/026	0/264	0/264	.492**	-														
Hydroxytyrosol acetate	0/212	0/125	0/086	0/063	.347*	-													
Ferrulic acid	0/124	0/103	0/08	.497**	0/258	.676*	-												
o_cumaric_acid	-0/199	0/295	.433*	.476**	*	.727*	0/005	0/046	-										
d_m_oleuropein_a	.691**	0/128	.419*	0/141	*	*	*	0/216	-										
Oleuropein	.451**	0/135	0/074	-.392*	-0/159	-.414*	-.389*	0/155	.493**	-									
OAD_form	-0/211	0/297	0/196	-.412*	*	.413*	*	.698**	.399*	0/204	-								
Tyrosol acetate	0/234	0/045	.423*	-.380*	*	0/025	0/092	.471**	.464**	0/296	*	-							
D_ligstAo	-0/007	0/302	0/056	-0/224	*	.639*	.834*	.661*	*	.712*									
DLAD_form	-0/007	0/303	0/055	-0/224	*	.640*	.833*	.662*	*	.713*	0/242	-							
Ligsteroid_AgDform	-0/327	0/071	0/005	-0/252	-0/236	-.347*	-0/246	0/08	.461**	*	0/183	0/323	-0/293	-0/293	-				
Luteolin	-.387*	.440*	0/077	-0/329	*	.552*	.361*	.392*	.488**	0/206	*	*	.392*	.564**	*	.349*	-		
OAAHform	0/128	0/075	0/136	.779**	-0/286	.380*	*	.579**	0/209	-0/235	-0/146	0/035	0/035	0/035	0/107	0/006	-		
Ligstroside_AAHform	-0/025	0/097	0/014	-.388*	*	.577*	.420*	*	.518**	0/34	0.151	*	*	.697**	*	0/27	*	0/199	-
Total phenol	0/191	0/065	0/182	0/02	.406*	.439*	*	0.29	.568**	0.22	*	*	.549**	*	0/322	*	0/26	*	-

** Correlation is significant at the 0.01, * Correlation is significant at the 0.05 level.

Table 3 shows the phenolic pattern of the analyzed Iranian olive oils including 22 phenolic compounds. Secoiridoids were major phenolic compounds in olive oils which include mainly oleuropein, aglycon derivatives of oleuropein, demethyloleuropein, ligstroside. Hydroxytyrosol, tyrosol, oleuropein, luteolin, apigenin, and ligstroside aglycone (aldehyde and hydroxylic form) were detected in all samples, whereas caffeic acid was not found in any brands. Similar phenolic pattern was observed in Spanish olive oils (Franco et al., 2014). Consequently, caffeic acid in Turkish olive oil was not found or indicated in trace amount (Ocakoglu et al., 2009). According to ANOVA results, different content of oleuropein aglycone (aldehyde and hydroxylic form) were the main difference in phenolic fraction among selected brands (Table 3).

From the Table 3, it was found that high concentration of decarboxymethyl ligstroside aglycone (oxidized dialdehyde form and dialdehyde form), decarboxymethyl oleuropein aglycone (Dialdehyde form), *ortho*-Cumaric acid, ferrulic acid and *para*-cumaric acid were notable in the Z₂ sample. As pungent olive oils consist of higher amounts of deacetoxy ligstroside aglycone, it could be concluded that this sample has strong pungency and throat irritation comparing to the other samples and results of sensory evaluation (Table 2) confirmed this finding. These results are similar to previous studies (Andrewes et al., 2003, Beauchamp et al., 2005, Boskou et al., 2005)

Hydroxytyrosol of Z₁ sample, was significantly ($p < 0.05$) higher than the other brands (Table 3). Hydroxytyrosol is a simple phenol with significant antioxidant activity (Boskou et al., 2005). Holding of olives before oil extraction and consequent degradation of cell structure and mold growth may result in considerable loss of antioxidant. In order to have extra virgin olive oil with median defects of zero, it is necessary to extract the oil with no delay after harvesting. Table 2 shows that Z₁ sample had no defects and classified as EVOO.

Phenolic alcohols of olive oils which consist of tyrosol and hydroxytyrosol varied between 4-31 mg/kg (Table 3). The lowest amounts of the phenolic alcohol were observed in Qa₂, G, and F samples (3.77, 5.59, and 7.5 mg/kg respectively) with no significant differences (Table 3). Phenol alcohols of Turkish olive oil were reported between 4.86-14.56 mg/kg (Alkan et al., 2012). These compounds are related to the freshness of the olive oils which was mentioned before (Reboredo-Rodríguez et al., 2018). Concentration of hydroxytyrosol was often higher than tyrosol (Boskou et al., 2005), which was in accordance with the results obtained in this study. Although there were some exceptions in our study (Go₁, Go₂, and Qa₂) and also in the study conducted before, which reported that amounts of tyrosol was higher than hydroxytyrosol (Ocakoglu et al., 2009).

The main phenolic acids observed in this study were vanillic acid, *o*-cumaric acid, *p*-cumaric acid, and ferrulic acid (Table 3). In Turkish olive oils, vanillic acid, syringic acid and *p*-cumaric acid were identified (Ocakoglu et al., 2009). The oleuropein content of the samples varies between 1.71 and 33.08 mg/kg for Go₃ and G samples, respectively. During maturation of olive, the oleuropein continuously was reduced and replaced by its derivatives such as de methyl oleuropein. Therefore, the maximum content of oleuropein in G sample may indicated that other sample of olive oils with lower oleuropein contents have been made from more ripe olives. The main compounds which contributed to the bitterness of olive oil are oleuropein aglycone and other secoiridoid derivatives of hydroxytyrosol (García et al., 2001, Vitaglione et al., 2015). It was, therefore; expected that Go₂ and Z₂ samples have minimum and maximum bitterness respectively, which was confirmed by the results of sensory evaluation (Table 2).

Flavonoids levels represented by luteolin and apigenin varied between 1.35-27.98 mg/kg and 0.1-28.83 mg/kg, respectively. This finding consistent with the work done before, which reported flavonoids range of 0.05-30 mg/kg (Franco et al., 2014). These flavonoid compounds were determined in most of the Spanish, Italian, Portuguese and Turkish olive oils (Vinha et al., 2005, Bendini et al., 2007, Ocakoglu et al., 2009, Franco et al., 2014).

As can be seen in Table 3, the concentration of total phenolic compounds of the samples varies from 135.03 mg tyrosol/ kg for Go₁ to 354.53 mg tyrosol/ kg for Z₂ sample. These were within the range for extra virgin olive oil (100-800 mg kg⁻¹), which was indicated before (Tresserra-Rimbau and Lamuela-Raventos, 2017). The wide range of total phenol content was reported between 50 and 1000 mg/kg and usually described in the range of 100-300 mg/kg (Boskou et al., 2006). In general terms, TPC amounts of various samples showed significant differences ($p < 0.05$). There are a good and significant correlations between TPC and ligstroside aglycone-aldehyde and hydroxylic form ($r = 0.758$), luteolin ($r = 0.697$), oleuropein aglycone-dialdehyde form ($r = 0.723$) (Table 4). Also, there is a good correlation

between TPC and stability of the olive oil, as total phenol content increased, the shelf life of the oil was also increased (Boskou et al., 2005). Although, when TPC exceeds 300 mg/kg, the oil may have a bitter taste, which Iranian consumers would not prefer despite its high nutritional values. Therefore, samples with TPC less than 300 mg/kg could be recommended for olive oil consumers in Iran.

According to the European Food Safety Authority (EFSA), not all the phenolic compounds are beneficial for health, and olive oils containing at least 5 mg of hydroxytyrosol and its derivatives such as oleuropein complex and tyrosol, per 20 g of olive oil are allowed to be labeled for protection of blood lipids from oxidative stress (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies, 2012). All olive oil samples in this study met this criterion, due to the amount of hydroxytyrosol and its derivatives (Table 3).

Due to the fact that the phenolic compounds could be deemed as fingerprint, they could be used to describe and categorize the product (Alkan et al., 2012). In order to obtain the overall schematic pattern of sample classification regarding phenolic compounds, the information carried by the original variables was projected onto a smaller number of underlying variables, called principal components and their values as scores outlined in Table 5. The first principal component (PC1) covers as much of the variation in the data as possible (63.2%). The second principal component (PC2) is orthogonal to the first and covers as much of the remaining variation as possible (22.8%). The eigenvalues of correlation matrix which are equal to the variances of the principal component, when they are greater than one, were used. Therefore, the first two principal components which explained 86% of the data variability or total variance was an adequate amount of variation explained the data. Consequently, the other proportions which explain smaller amount of the variability in data, were not important to include (Table 5).

Table 5- Eigen value and cumulative percent of variances for the two main principal components

No	Phenolic compound	Principle 1	Principle 2
1	Hydroxytyrosol	0.023	0.722
2	Decarboxymethyl Oleuropein-aglycone-dialdehyde form	0.272	0.541
3	Oleuropein-aglycone-dialdehyde form	0.403	-0.180
4	Decarboxymethyl ligstroside aglycone-oxidised dialdehyde form	0.401	0.059
5	Decarboxymethyl ligstroside aglycone- dialdehyde form	0.396	0.053
6	Luteolin	0.338	-0.380
7	Total phenol	0.379	0.024
8	Tyrosols	0.433	-0.038
Cumulative Percent		63.2	86
Eigen value		0.632	0.228

In the first component, “Oleuropein-aglycone-dialdehyde form”, “Decarboxymethyl ligstroside aglycone-oxidised dialdehyde form”, and Tyrosols with coefficients of 0.403, 0.401, and 0.433 are the more important corresponding variable in calculation the component and showed the most important and positive effect on the group separation. By increasing these compounds, the first component also increased. Consequently, Hydroxytyrosol and “Decarboxymethyl Oleuropein-aglycone-dialdehyde form” showed the highest positive effect on the second component with coefficients of 0.722, 0.541 respectively, which played a significant role in discrimination of the olive oils. The reason of high discriminating power of these compounds is the lack or trace amounts of these phenols in olive oil samples. This finding was in accordance to the results obtained for vanillin and syringic acid due to the different harvest years of Turkish olive oils (Ocakoglu et al., 2009).

Score plot which shows the scores of the second principal component versus the scores of the first principal components (Figure. 1) clearly displays the difference between samples. As shown in the Figure 1, Z₂ sample with TPC>300 mg tyrosol/kg, placed in one group, alone (Group1), which has the highest value of the first component. The other samples with TPC<300 mg tyrosol/kg, also placed in the other group (Group 2). Z₂ sample belongs to the Mediterranean climate with average temperature and elevation of 11°C and 1638 meter, which is coldest and highest one in the studied climate regions (Table 1).

As shown in Figure 2, the loading plot associated with each component allows the most important variable to be selected. The loading plot of eight variables of olive oil samples shows that the most variables were placed in the positive and direct of the first component. The remaining eight variables were resulted after removing variables based on ANOVA, Pearson’s coefficients and small

coefficients of principal components. These variables which strongly influenced the components, were important in the group differentiation of the olive oil samples. Consequently, this variable showed the most significant correlation coefficients with the other variables (Table 4).

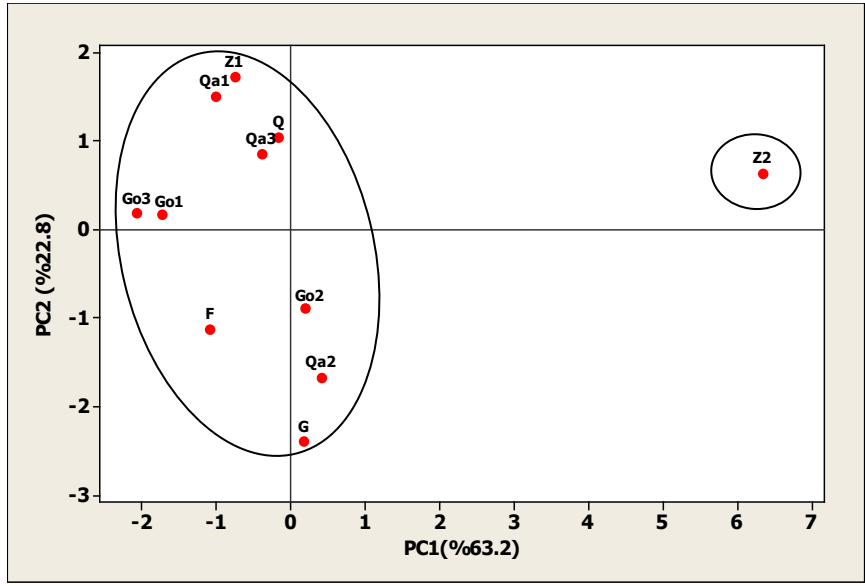


Figure 1. Score plot of Iranian olive oil samples scattered in principle components area based on the phenolic compounds.

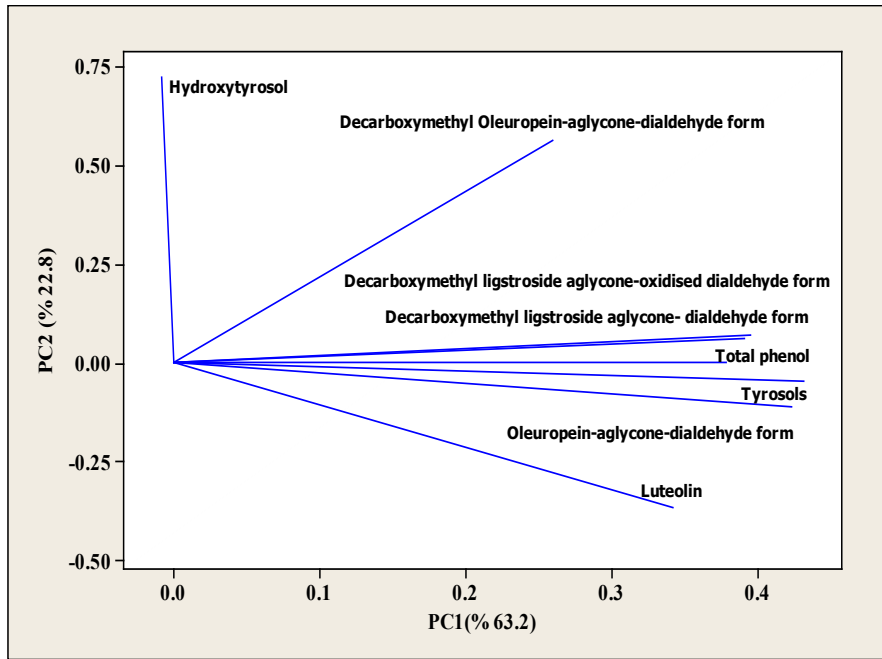


Figure 2. Loading Plot of the first two principal components PC1 and PC2.

According to the classification established by TPC, it can be concluded that Z₂ sample were within the category of high content phenolic compound (350<TPC<550 mg tyrosol/kg), samples with 200<TPC<300 mg tyrosol/kg including Q, G, Go₂, Qa₂, and Z₁ were within the intermediate content,

and samples with TPC<200 mg tyrosol/kg including Go₁, Go₃, F, Qa₁, and Qa₃ were within the low content phenolic compounds (Franco et al., 2014). VOO rich in phenolic content has more stability during cooking (Olivero-David et al., 2014). According to this concept, it could be considered that group with TPC less than 200mg/kg as the less stable olive oils and Z₂ sample with the highest TPC, as the most stable one PCA was not able to completely separate these samples based on TPC, but in some cases such as Go₁ and Go₃ or Qa₁ and Qa₃, they were placed near as can be seen in score plot which belongs to the same climate conditions. In the other study conducted before (Shavakhi et al., 2020), fatty acid profiles of the Iranian olive oils using the same samples revealed that samples of Go₁, Z₁, and Qa₁ were placed in high quality group of olive oil. Since the quality of olive oil was affected by various variables such as cultivar, geographical origin, irrigation, climatic conditions, processes condition, degree of maturity, harvesting methods, freshness of fruit before oil extraction, extraction method and storage conditions (Boskou et al., 2005, Franco et al., 2014, Servili et al., 2014, Reboredo-Rodríguez et al., 2018) therefore, overall quality assessment of the olive oils requires a holistic view of different experiments approaches.

4. Conclusion

This study showed that virgin olive oils could be discriminated by differences in their phenolic compounds. PCA was able to discriminate olive oil samples based on their phenolic profiles. Since the first two components account for the most of the variation in the data (86%), they could be used to assess the data structure, detect clusters, outlier and trends. In general terms, two distinct groups were observed based on separate distribution in the data, including TPC<300 mg tyrosol/kg olive oil and TPC>300 mg tyrosol/kg of olive oil based on their richness in total phenolic compounds, which could be related to the organoleptic characteristics, and consequently possible health claims of the olive oil. The results of this work will help define qualitative analysis strategies for olive oils. Moreover, based on the polyphenolic components, it can be considered a valid approach to enhance the quality and consider the needs of the producer and the consumer. In addition to other qualitative parameters, phenolic compounds assessment may have potential for quality ranking of the olive oils. It also can be applied to confirm the results of sensorial assessment of the oils.

References

- Alkan, D., Tokatli, F., & Ozen, B. (2012). Phenolic characterization and geographical classification of commercial extra virgin olive oils produced in Turkey. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(2), 261-268.
- Amanpour, A., Kelebek, H., & Selli, S. (2019). LC-DAD-ESI-MS/MS-based phenolic profiling and antioxidant activity in Turkish cv. Nizip Yaglik olive oils from different maturity olives. *Journal of Mass Spectrometry*, 54(3), 227-238.
- Andrewes, P., Busch, J. L. H. C., de Joode, T., Groenewegen, A., & Alexandre, H. (2003). Sensory Properties of Virgin Olive Oil Polyphenols: Identification of Deacetoxy-ligstroside Aglycon as a Key Contributor to Pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1415-1420.
- Beauchamp, G. K., Keast, R. S., Morel, D., Lin, J., Pika, J., Han, Q., Lee, C. H., Smith, A. B., & Breslin, P. A. (2005). Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*, 437(7055), 45-46.
- Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules*, 12(8), 1679-1719.
- Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2005). Phenolic compounds in olive oil and olives. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 3(2), 125-136.
- Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2006). Olive oil composition. *Olive Oil*, Elsevier, 41-72.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2012). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to polyphenols in olive and maintenance of normal blood HDL cholesterol concentrations (ID 1639, further assessment) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 10(8), 2848.

- Franco, M. N., Galeano-Díaz, T., Sánchez, J., De Miguel, C., & Martín-Vertedor, D. (2014). Total phenolic compounds and tocopherols profiles of seven olive oil varieties grown in the south-west of Spain. *Journal of Oleo Science*, 63(2), 115-125.
- García-Gonzalez, D. L., Tena, N., & Aparicio, R. (2010). "Quality Characterization of the New Virgin Olive Oil Var. Sikitita by Phenols and Volatile Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8357-8364.
- García, J. M., Yousfi, K., Mateos, R., Olmo, M., & Cert, A. (2001). "Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4231-4235.
- IOC. (2017). Determination of biophenols in olive oils by HPLC, (COI)T.20/Doc No 29/Rev.1.
- IOC. (2018a). Sensory analysis of olive oil method for the organoleptic assessment of virgin olive oil, (COI)T.20/Doc No 15/Rev.10
- IOC. (2018b). Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. COI/T.15/NC No 3/Rev. 12.
- Lerma-García, M. J., Lantano, C., Chiavaro, E., Cerretani, L., Herrero-Martínez, J. M., & Simó-Alfonso, E. F. (2009). Classification of extra virgin olive oils according to their geographical origin using phenolic compound profiles obtained by capillary electrochromatography. *Food Research International*, 42(10), 1446-1452.
- Ocakoglu, D., Tokatli, F., Ozen, B. and Korel, F. (2009). Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*, 113(2), 401-410.
- Olivero-David, R., Mena, C., Pérez-Jimenez, M. A., Sastre, B., Bastida, S., Márquez-Ruiz, G., & Sánchez-Muniz, F. J. (2014). Influence of Picual Olive Ripening on Virgin Olive Oil Alteration and Stability during Potato Frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(48): 11637-11646.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Piravi-Vanak, Z., Ghasemi, J. B., Ghavami, M., Ezzatpanah, H., & Zolfonoun, E. (2012). The Influence of Growing Region on Fatty Acids and Sterol Composition of Iranian Olive Oils by Unsupervised Clustering Methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(3): 371-378.
- Ranalli, A., Modesti, G., Patumi, M., & Fontanazza, G. (2000). The compositional quality and sensory properties of virgin olive oil from a new olive cultivar I-77. *Food Chemistry*, 69(1), 37-46.
- Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Forbes-Hernández, T. Y., Gasparri, M., Afrin, S., Cianciosi, D., Carrasco-Pancorbo, A., Simal-Gándara, J., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Characterization of phenolic extracts from Brava extra virgin olive oils and their cytotoxic effects on MCF-7 breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 119, 73-85.
- Rodrigues, N., Casal, S., Pinho, T., Peres, A. M., Bento, A., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2019). Ancient olive trees as a source of olive oils rich in phenolic compounds. *Food Chemistry*, 276, 231-239.
- Rodríguez-López, P., Lozano-Sanchez, J., Borrás-Linares, I., Emanuelli, T., Menéndez, J. A., & Segura-Carretero, A. (2020). Structure–Biological Activity Relationships of Extra-Virgin Olive Oil Phenolic Compounds: Health Properties and Bioavailability. *Antioxidants*, 9(8), p.685.
- Servili, M., Sordini, B., Esposto, S., Urbani, S., Veneziani, G., Di Maio, I., Selvaggini, R. and Taticchi, A. (2014). Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants*, 3(1), 1-23.
- Shavakhi, F., Boo, H. C., Osman, A., & Ghazali, H. M. (2011). Application of zNose™ for classification of enzymatically-macerated and steamed pumpkin using principal component analysis. *International Food Research Journal*, 18, 311-318.
- Shavakhi, F., Moradi, P., & Rahmani, A. (2020). Quality classification of some of the Iranian olive oils using chemometric tools. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 51(2), 419-431.
- Squeo, G., Caponio, F., Paradiso, V. M., Summo, C., Pasqualone, A., Khmelinskii, I., & Sikorska, E. (2019). Evaluation of total phenolic content in virgin olive oil using fluorescence excitation–emission spectroscopy coupled with chemometrics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2513-2520.

- Tresserra-Rimbau, A., & Lamuela-Raventos, R. M. (2017). "22 Olives and olive oil: a Mediterranean source of polyphenols. *Olives and Olive Oil as Functional Foods: Bioactivity, Chemistry and Processing*, 417.
- Vinha, A. F., Ferreres, F., Silva, B. M., Valentao, P., Gonçalves, A., Pereira, J. A., Oliveira, M.B., Seabra, R.M. & Andrade, P. B. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89(4), 561-568.
- Vitaglione, P., Savarese, M., Paduano, A., Scalfi, L., Fogliano, V., & Sacchi, R. (2015). Healthy Virgin Olive Oil: A Matter of Bitterness. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(13): 1808-1818.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Science

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



Araştırma Makalesi (Research Article)

**Changes in Qualitative and Quantitative Traits of Anatolian Chestnuts
(*Castanea sativa* Mill.) Fruit Due to Balanced Macro Fertilization**

Serdar TOPRAK^{1*}, Özgür ATEŞ², Gülser YALÇIN³, Kadriye TAŞPINAR⁴

¹Agricultural Production and Training Center, Department of Plant Production, Söke, Aydın, Turkey

^{2,3,4}Transitional Zone Agricultural Research Institute, Department of Soil and Water Research, Eskişehir, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-3939-8530> ²<https://orcid.org/0000-0002-9345-417X> ³<https://orcid.org/0000-0002-8838-3055>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-9781-7222>

Sorumlu yazar e-posta: serdar.toprak@gmail.com

Article Info

Received: 26.10.2020

Accepted: 23.04.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.816155

Keywords

Chestnut,
Fertilization,
Fruit,
Nutrition,
Yield,
Quality.

Abstract: The aim of this study was to determined effect of different doses of N: P: K applications on fruit yield and some quality traits in Anatolian chestnut in Bursa (Turkey) ecological condition during 2013 and 2014. In the research, triple experimental zones were determined in a 20-year-old chestnut orchard. Each of these experimental zones consisted of 30 trees. As experimental treatments, 1.1, 2.2, 3.3, and 4.4 lb N tree⁻¹ (N application zone; NAZ), 0.55, 1.1, 1.65, and 2.2 lb P tree⁻¹ (P application zone; PAZ), 1.1, 2.2, 3.3, and 4.4 lb K tree⁻¹ (K application zone; KAZ) were applied except for the control dose. The fertilizer doses were applied by mixing to 30 cm depth of tree canopy soil in April. According to analyses of collected, nitrogen, phosphorus, and potassium affected fruit yield by 30, 31, and 27%, respectively. Total protein increased the fastest at the nitrogen application's zone (NAZ) at an average of 14% rate. The highest increasing in carbohydrate, starch, and invert sugar was recorded as 20, 24, and 18%, respectively at N: P: K application's zone.

**Dengeli Makro Gübrelemeye Bağlı Olarak Anadolu Kestanesi (*Castanea sativa* Mill.)
Meyvelerinin Kalitatif ve Kantitatif Özelliklerinde Değişimler**

Makale Bilgileri

Geliş: 26.10.2020

Kabul: 23.04.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.816155

Anahtar kelimeler

Kestane,
Gübreleme,
Meyve,
Beslenme,
Verim,
Kalite.

Öz: Bu çalışmanın amacı, Bursa (Türkiye) ekolojik koşullarında 2013 ve 2014 yıllarında Anadolu kestanesinde farklı dozlarda N: P: K uygulamalarının meyve verimi ve bazı kalite özellikleri üzerindeki etkisinin belirlenmesidir. Araştırmada, 20 yıllık bir kestane bahçesinde örneklenen üçlü deneme bölgelerinde gerçekleştirilmiştir. Bu deneme bölgelerinin her biri 30 ağaçtan oluşmaktadır. Deneme konuları olarak, kontrol dozu haricinde 1.1, 2.2, 3.3 ve 4.4 lb N ağaç⁻¹ (N uygulama bölgesi; NAZ), 0.55, 1.1, 1.65 ve 2.2 lb P ağaç⁻¹ (P uygulama bölgesi; PAZ), 1.1, 2.2, 3.3 ve 4.4 lb K ağaç⁻¹ (K uygulama bölgesi; KAZ) uygulanmıştır. Gübre dozları Nisan ayında 30 cm derinliğindeki ağaç taç izdüşümü toprağına karıştırılarak uygulanmıştır. Elde edilen verilere göre azot, fosfor ve potasyum meyve verimini sırasıyla % 30, % 31 ve % 27 oranında etkilemiştir. Toplam protein, en hızlı nitrojen uygulama bölgesinde (NAZ) ortalama % 14 oranında artmıştır. Karbonhidrat, nişasta ve invert şekerde en yüksek artış N, P, K uygulama bölgelerinde sırasıyla % 20, 24 ve 18 olarak kaydedilmiştir.

1. Introduction

Generally, macro fertilization defines the three essential nutrients nitrogen, phosphorus, and potassium needed by cultivated plants. It has direct effects on the vegetative and generative development of plants as well as fruit yield and quality. Chestnuts are wealthy in starch and sugars, principally monosaccharides, and disaccharides such as glucose, fructose, sucrose, and raffinose. Besides, chestnuts diverge from other nuts for their low-fat content which makes them an ideal fit for high complicated carbohydrates and they have an inimitable taste (Vasconcelos et al., 2010). Chestnut fruits are highly esteemed and widely consumed throughout Europe, America, and Asia. Worldwide chestnut production is 2 327 500 tons. Chestnuts are mainly cultivated in China (1 879 000 tons), Bolivia (84 800 t.), Turkey (64 750 t.), and the Republic of Korea (56 200 tons) (FAO, 2019).

A fertilizer program is needed to make fertilizer product profitability and get products of high quality in chestnut production. If chemical fertilization is to be applied, fertilizers of the appropriate type and quantity can be determined by a regular soil analysis. Regardless of the type of fertilizer, applications have to be passed in spring and never fertilization after June (Wahl, 2002). Because of the gathering of potential in fruit, nitrogen fertilizers could be expected to affect plenty of quality properties, primarily protein content in chestnut. It has been reported that low levels of nitrogen in chestnuts while cause poor growth and reduced flowering, low phosphorus levels cause a decrease in the number of developing female flowers (Rutter et al., 1990).

The goal of this study is to determine the effect of N: P: K mineral fertilizer applications on fruit qualitative and quantitative properties in mature Anatolian chestnut trees. Also, this study is to prove the change of some nutritional values of sugar chestnuts with macro fertilization.

2. Materials and Methods

2.1. Site properties

The experiment was carried out in a chestnut orchards of Bursa in the Osmanoğlu cultivar the sweet Anatolian chestnut trees of 20 years old during 2013 and 2014. Chestnut orchard was divided into three fertilization zones as nitrogen application zone (NAZ), phosphorus application zone (PAZ), and potassium application zone (KAZ). The study was prepensed as a randomized parcel design with three replications and two trees in each parcel. Fertilization was applied to a total of 90 trees.

Nitrogen fertilizer applications were adjusted to be N_0 : 0, N_1 : 1.1, N_2 : 2.2, N_3 : 3.3, N_4 : 4.4 lb tree⁻¹, phosphorus fertilizer applications, P_0 : 0, P_1 : 0.55, P_2 : 1.1, P_3 : 1.65, P_4 : 2.2 lb tree⁻¹ and potassium fertilizer applications, K_0 : 0, K_1 : 1.1, K_2 : 2.2, K_3 : 3.3, K_4 : 4.4 lb tree⁻¹. Moreover, support fertilizers were applied for nitrogen application treatments as 1.65 lb P tree⁻¹ and 3.3 lb K tree⁻¹, for phosphorus application treatments as 3.3 lb N tree⁻¹ and 3.3 lb K tree⁻¹, for potassium application treatments as 3.3 lb N tree⁻¹ and 1.65 lb P tree⁻¹. Treatments and support fertilizers were applied to the canopy of the chestnut tree in April month mixed in 0-30 cm soil depth. In the research, urea (CH₄N₂O) was used as a nitrogen origin, triple superphosphate (Ca(H₂PO₄)₂.H₂O) as a phosphorus origin, and potassium chloride (KCl) as a potassium origin.

The territory is located in the Marmara and the Aegean climate transitional zone. In the vegetation period (from March to October), the total amount of annual rainfall was 364.4 mm in the first year and 398.9 mm in the second year. The average temperature throughout the study was consistent with the long-term average temperature (18.3 C). Also, the total rainfall was coherent with the total rainfall long term years. Climate data for the experimental orchard and periods were shown in Figure 1.

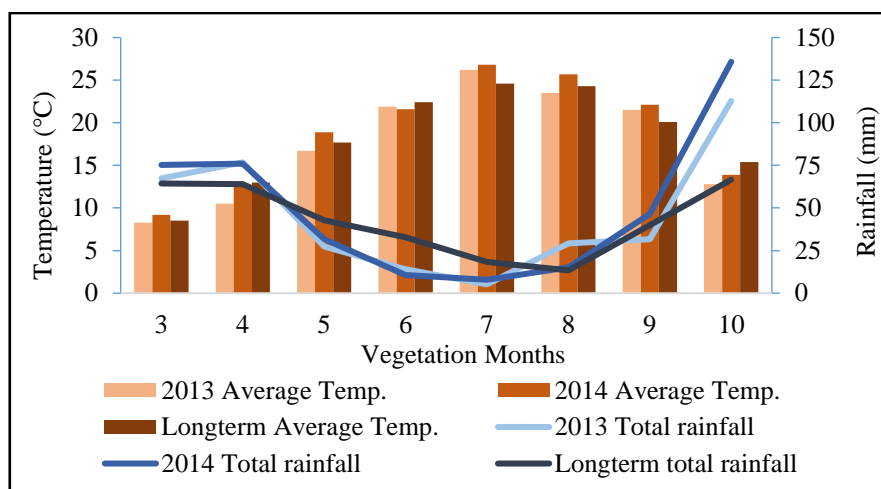


Figure 1. Climate data of the research site during the chestnut vegetation period over two years.

The soil samples of the research site were taken in March. Some physical and chemical analyses of soils concerning to the chestnut orchard were presented in Table 2. According to results, when the soil properties of the chestnut orchard were examined, it was determined that the soil's physical structure was loamy, the soil pH was slightly acidic (5.65), and organic matter (1.51 %) were insufficient. It was found that the total salt (0.04 %) and CaCO₃ (0.38%) content of the soil were low levels. Also, the macronutrient contents were determined to be insufficient and micronutrient contents were found to be sufficient in the soil.

Table 1. Some soil physicochemical characteristics of the research orchard (0-30 cm depth)

Soil characteristics	Methods	Soil characteristics	Methods*
Soil texture	Loamy	Potassium (mg kg ⁻¹)	NH ₄ OAc
Total Salt (%)	0.04	Calcium (mg kg ⁻¹)	NH ₄ OAc
pH; 1:1 (w/v)	5.65	Magnesium (mg kg ⁻¹)	NH ₄ OAc
CaCO ₃ (%)	0.38	Iron (mg kg ⁻¹)	DTPA
Organic matter (%)	1.51	Zinc (mg kg ⁻¹)	DTPA
Total nitrogen (%)	0.05	Manganese (mg kg ⁻¹)	DTPA
Phosphorus (mg kg ⁻¹)	7.36	Copper (mg kg ⁻¹)	DTPA

*NH₄OAc: Amonium Acetate, DTPA: Diethylenetriaminepentaacetic acid.

2.2. Harvest and biochemical analysis in fruit

Chestnuts were harvested during the mercantile harvest period (mid-October) in Bursa when fruits reached a physiological maturity stage where the chestnut burs began to separate and the fruits had grown and brown color. To determine the gross yield of each tree, nuts were harvested by vibrating trees and picking by hand. The fruit samples of randomly sampled 120-150 gr nuts were analyzed by crushing them with mortar after removing their outer shell and seed shell (testa). Dry matter contents of the samples were determined by drying them in a hot air oven at 105 °C overnight (12 h) (Ertürk et al., 2006).

The total protein content was calculated by multiplying the nitrogen content by the Kjeldahl method with a coefficient of 5.30 (AOAC, 1990). The dinitrophenol method was used in the analysis of total carbohydrate, total and invert sugar (Ross, 1959) using a Beckman Du 530 model spectrophotometer. The amount of starch was calculated by multiplying the value obtained by subtracting total sugars from total carbohydrates by a factor of 0.94.

2.3. Statistical analysis

The data was analyzed by JMP according to the randomized parcels design. The differences between the average values and application years were determined by the LSD test and the

relationships between the features examined were also estimated in the same statistic package. The means were grouped by the Duncan test.

3. Results and Discussion

3.1. Fruit yield

Fertilizers applied in a certain balance contributed significantly to chestnut yields at statistical levels ($p < 0.05$) in all fertilizer application zones (Table 2). The fastest yield increasing was achieved in the nitrogen application zone (NAZ). In the first year, the yields increased by about 25% compared to the control, while the yields increased by about 37% in the second year. Statistical significance was showed at both the year and the dose level. Besides, year x fertilizer dose interaction was found to be statistically significant. The N₃PK dose of average fruit yields came to the fore and the highest yield was recorded at this dose of balanced fertilizer. As it is known, when nitrogen is applied to plants, it causes an increase in nutrients in leaf tissues and thus an increase in yield (Centeno and Campo, 2011; Yağmur et al., 2019).

Table 2. Chestnut yields (lb tree⁻¹) after balanced N:P:K applications.

Years	Nitrogen Application Zone (NAZ)					Average
	N ₀ PK	N ₁ PK	N ₂ PK	N ₃ PK	N ₄ PK	
2013	60.5 ^{def*}	58.7 ^f	63.6 ^{cd}	75.5 ^a	63.8 ^{cd}	64.4 ^{A*}
2014	51.5 ^g	59.2 ^{ef}	66.2 ^c	70.4 ^b	62.7 ^{cde}	62.0 ^B
Average	56.0 ^{D*}	59.0 ^C	64.9 ^B	73.0 ^A	63.3 ^B	
Years	Phosphorus Applications Zone (PAZ)					Average
	P ₀ NK	P ₁ NK	P ₂ NK	P ₃ NK	P ₄ NK	
2013	48.6	54.1	59.0	60.3	49.5	54.3 ^{B*}
2014	47.1	54.8	61.6	64.9	55.9	56.8 ^A
Average	47.9 ^{C*}	54.5 ^B	60.3 ^A	62.6 ^A	52.7 ^B	
Years	Potassium Applications Zone (KAZ)					Average
	K ₀ NP	K ₁ NP	K ₂ NP	K ₃ NP	K ₄ NP	
2013	47.4	47.4	56.0	60.6	58.1	53.9
2014	49.4	53.9	55.2	62.5	62.8	56.8
Average	48.4 ^{D*}	50.7 ^{CD}	55.6 ^{BC}	61.5 ^A	60.5 ^{AB}	

The capital letters represent the results of the Duncan test (*, $P < 0.05$) for averages, and lower case letters show the results of the Duncan test (* $P < 0.05$) for interaction between years and treatments. There is no statistical difference between values not shown with letters.

In the balanced fertilization in the phosphorus application zone (PAZ), the highest yield was found at the P₃NK dose. Statistically significant differences were obtained in both the years and the fertilizer dose level. But, Year x Fertilizer interaction was not significant. Fruit yields increased by an average of 35% in this zone. The most obvious reason for this situation is the nitrogen and potassium applications applied together. In the first year, the fruit yield increased by 24% compared to the control level, while in the second year it increased by approximately 33%. Studies on cultivated plants have shown that phosphorus fertilizers significantly increase the amount of crops and continuous phosphorus application has stimulating effects on yield (Güneş et al., 2010).

Fruit yield increased by an average of 27% with a balanced fertilization in the potassium application zone (KAZ). Although there was no statistically significant difference between the application years, significant differences were obtained between the fertilizer doses. Besides, year x fertilizer interaction was not significant. In the first year, while fertilizer balanced potassium fertilizer applications increased the yield of approximately 28%, in the second year, 27% yield increase was recorded. The highest fruit yield was detected in K₃NP balanced fertilizer application. Potassium applications increase the size, yield, and quality of the fruit (Kacar and Katkat, 2011).

3.2. Total protein

According to the protein analysis results, no statistically significant ($p < 0.05$) difference was found between the application years in all application zones. Despite, important differences have been obtained between the application levels. Also, year x fertilizer interaction was found to be statistically

insignificant in all fertilizer application zones (Table 3). The fastest fruit protein content increase was obtained in NAZ (N_3PK : $10.64 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). An increase of approximately 14% has been determined in this application compared to the control dose. The amount of nitrogen in the soil and many cultural practices could be effective on the protein ratio and quality (Fageria et al., 2011).

Table 3. Chestnut total protein ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) contents after balanced N:P:K applications

Nitrogen Application Zone (NAZ)						
Years	N_0PK	N_1PK	N_2PK	N_3PK	N_4PK	Average
2013	9.20	9.56	10.51	10.61	10.13	10.00
2014	9.42	9.61	10.54	10.66	9.86	10.02
Average	9.31 ^{C*}	9.59 ^C	10.52 ^A	10.64 ^A	10.00 ^B	
Phosphorus Applications Zone (PAZ)						
Years	P_0NK	P_1NK	P_2NK	P_3NK	P_4NK	Average
2013	6.05	6.61	6.03	6.04	6.11	6.17
2014	6.19	6.43	6.76	6.34	5.81	6.31
Average	6.12 ^{BC*}	6.52 ^A	6.40 ^{AB}	6.19 ^{ABC}	5.96 ^C	
Potassium Applications Zone (KAZ)						
Years	K_0NP	K_1NP	K_2NP	K_3NP	K_4NP	Average
2013	6.68	6.87	6.98	7.25	7.24	7.01
2014	6.85	6.98	7.03	7.33	7.27	7.09
Average	6.77 ^{C*}	6.92 ^{BC}	7.01 ^{ABC}	7.29 ^A	7.26 ^{AB}	

The capital letters represent the results of the Duncan test (*, $P < 0.05$) for averages, and lower case letters show the results of the Duncan test (* $P < 0.05$) for interaction between years and treatments. There is no statistical difference between values not shown with letters.

However, the highest fruit protein content in PAZ was recorded as $6.52 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ for P_1NK dose. An increase of 6.5% was achieved compared to the control level with this application. In addition, the lowest fruit protein content at the highest P level was determined as $5.96 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. So, when N and K were in equilibrium, increasing of P were decreased the protein content of fruit. This perhaps due to the negative interaction of nitrogenous and potassium fertilizers given in basic fertilization with the final phosphorus dose. As known, fertilization with high amounts of phosphorus causes the plants are not to benefit from sufficient nitrogen and potassium (Kacar and Katkat, 2011).

Potassium plays a role in protein synthesis in plant growth and is essential for the production of high-energy molecules such as ATP (Imas, 1999). The highest fruit protein content in KAZ was recorded as $7.29 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ for K_3NP . Unlike P, fruit protein content increased as K levels increased. A 7.7% increase was detected at this dose compared to the control dose. The protein contents was reported between 3.43 and $13.28 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ by researchers on chestnut. (Ertürk et al., 2006).

3.3. Carbohydrate

Statistically significant differences were obtained in fruit carbohydrate contents only in NAZ and KAZ both between years and between doses. In PAZ, on the other hand, no statistically significant difference was detected only between application doses. In addition, year x fertilizer interactions were found important in all regions. The second dose of fertilizers applied in NAZ and PAZ achieved the highest carbohydrate content. A decrease was noted with subsequent doses. However, in KAZ, the highest carbohydrate content was detected in the third application dose (Table 4). The highest carbohydrate content in NAZ was recorded as $45.9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ at the N_2PK dose. In this balanced nitrogen application, an increase of 17.4% was achieved compared to the control dose. A decrease in the carbohydrate content of the fruit was noted at doses after this dose. As the amount of nitrogen applied to plants increases, the content of carbohydrates decreases (Rodrigues et al., 2006).

Table 4. Chestnut carbohydrate (g 100 g⁻¹) contents after balanced N:P:K applications

Nitrogen Application Zone (NAZ)						
Years	NoPK	N ₁ PK	N ₂ PK	N ₃ PK	N ₄ PK	Average
2013	40.0 ^{ef*}	40.3 ^{de}	41.9 ^{cd}	39.1 ^{ef}	42.6 ^c	40.8 ^{B*}
2014	38.2 ^f	46.1 ^b	49.9 ^a	44.5 ^b	40.1 ^e	43.8 ^A
Average	39.1 ^{D*}	43.2 ^B	45.9 ^A	41.8 ^C	41.3 ^C	
Phosphorus Applications Zone (PAZ)						
Years	P ₀ NK	P ₁ NK	P ₂ NK	P ₃ NK	P ₄ NK	Average
2013	51.8 ^{cd*}	52.9 ^{cd}	52.6 ^{cd}	51.1 ^d	51.4 ^{cd}	52.0 ^{B*}
2014	52.6 ^{cd}	53.6 ^{bc}	55.8 ^a	57.0 ^a	55.5 ^{ab}	54.9 ^A
Average	52.2	53.3	54.2	54.1	53.5	
Potassium Applications Zone (KAZ)						
Years	K ₀ NP	K ₁ NP	K ₂ NP	K ₃ NP	K ₄ NP	Average
2013	35.3 ^{e*}	40.6 ^c	40.5 ^c	40.6 ^c	39.8 ^{cd}	39.4 ^{B*}
2014	38.1 ^d	42.7 ^b	46.7 ^a	47.4 ^a	43.9 ^b	43.8 ^A
Average	36.7 ^{C*}	41.7 ^B	43.6 ^A	44.0 ^A	41.9 ^B	

The capital letters represent the results of the Duncan test (*, P < 0.05) for averages, and lower case letters show the results of the Duncan test (*P < 0.05) for interaction between years and treatments. There is no statistical difference between values not shown with letters.

Besides, compared to the first application year, the carbohydrate increase was 7.3% in the second year. Carbohydrate content was recorded as 54.2 g 100 mg⁻¹ for the highest P₂NK dose in PAZ. Compared to the control level, this dose increased by a 3.8% rate. Furthermore, compared to the first year, the fruit carbohydrate content increased by 5.6% in the second year. Moreover, when there was enough phosphorus in the fruit, the amount of starch could be increase (Fageria et al., 2011). The fastest increase in carbohydrate content occurred a 19.9% increase in the K₃NP dose was noted compared to the control dose in KAZ. Potassium was very effective on carbohydrate mechanism. In addition, continuously applied potassium increases the quality of cultivated plants (Kumar et al., 2006). In addition, the fastest carbohydrate increase among the years has been determined in KAZ. Carbohydrate content increase in the second year was recorded at approximately 11.1% compared to the first year.

3.4. Total starch

Starch content of chestnut fruit gave positive responses to balanced macro fertilization in all fertilizer application zones. The applied fertilizers were found to statistically significant contributions to the fruit starch content. However, significant statistical differences have been obtained in NAZ and KAZ both between years and between applications. Starch contents were found to be statistically significant in PAZ only between years. In addition, statistical differences in year x fertilizer interactions of all applications were recorded (Table 5).

The highest starch content in NAZ was determined as 35.7 mg 100 g⁻¹ at N₂PK application. According to the control level, the starch content increased by about 20% in this application. Also, compared to the first year, the fruit starch content increased by 6% in the second year. In PAZ that another application zone, the highest starch content was recorded as 43.3 mg 100 g⁻¹ for P₂NK application. Compared to the first year, the starch content in the fruit increased by 6.5% in the second year. However, after the second dose applied in both NAZ and PAZ, the starch content decreased despite the increased fertilizer applications. Also, when there was excessive phosphorus in fruit, the amount of starch perhaps decreased (Kumar et al., 2006).

Table 5. Chestnut total starch (g 100 g⁻¹) contents after balanced N:P:K applications

Nitrogen Application Zone (NAZ)						
Years	N ₀ PK	N ₁ PK	N ₂ PK	N ₃ PK	N ₄ PK	Average
2013	30.6 ^{ef*}	31.1 ^{de}	32.6 ^{cd}	29.1 ^f	33.2 ^c	31.3 ^{B*}
2014	29.0 ^f	35.5 ^b	38.9 ^a	33.3 ^c	29.4 ^{ef}	33.2 ^A
Average	29.8 ^{D*}	33.3 ^B	35.7 ^A	31.2 ^C	31.3 ^C	
Phosphorus Applications Zone (PAZ)						
Years	P ₀ NK	P ₁ NK	P ₂ NK	P ₃ NK	P ₄ NK	Average
2013	41.9 ^{de*}	42.2 ^{de}	41.8 ^{de}	40.4 ^e	40.7 ^{de}	41.4 ^{B*}
2014	42.5 ^{cde}	42.8 ^{bcd}	44.8 ^{ab}	45.9 ^a	44.5 ^{abc}	44.1 ^A
Average	42.2	42.5	43.3	43.2	42.6	
Potassium Applications Zone (KAZ)						
Years	K ₀ NP	K ₁ NP	K ₂ NP	K ₃ NP	K ₄ NP	Average
2013	24.8 ^{fg*}	29.4 ^{cd}	28.9 ^{de}	29.0 ^{de}	28.1 ^{de}	28.0 ^{B*}
2014	27.2 ^e	31.1 ^{bc}	34.8 ^a	35.3 ^a	32.1 ^b	32.1 ^A
Average	26.0 ^{C*}	30.3 ^B	31.8 ^A	32.2 ^A	30.1 ^B	

The capital letters represent the results of the Duncan test (*, P < 0.05) for averages, and lower case letters show the results of the Duncan test (*P < 0.05) for interaction between years and treatments. There is no statistical difference between values not shown with letters.

Furthermore, the fastest increasing in fruit starch content was determined in KAZ. Approximately 24% increasing was determined for K₃NP application compared to the control. In addition, a very fast increasing in sugar was found over the years. Fertilizers applied in the second year compared to the first application year increased the fruit sugar ratio by approximately 15%. Potassium action in starch synthetase enzyme activity is quite high up to a certain grade (Fageria et al., 2011). Starch was transported to the storage organs especially in the entity of adequate potassium (Kacar and Katkat, 2011).

3.5. Total sugar

Significant statistical differences were recorded between total sugar content and all fertilizer applications in NAZ, PAZ, and KAZ. However, statistically, significant differences were detected between years and year x fertilizer interactions only in NAZ (Table 6).

Table 6. Chestnut total sugar (g 100 g⁻¹) contents after balanced N:P:K applications

Nitrogen Application Zone (NAZ)						
Years	N ₀ PK	N ₁ PK	N ₂ PK	N ₃ PK	N ₄ PK	Average
2013	8.17 ^{c*}	7.93 ^c	7.94 ^c	8.85 ^b	7.97 ^c	8.17 ^B
2014	8.00 ^c	9.08 ^b	9.41 ^{ab}	9.79 ^a	9.44 ^{ab}	9.14 ^A
Average	8.09 ^{C*}	8.50 ^{BC}	8.67 ^B	9.32 ^A	8.71 ^B	
Phosphorus Applications Zone (PAZ)						
Years	P ₀ NK	P ₁ NK	P ₂ NK	P ₃ NK	P ₄ NK	Average
2013	7.25	8.01	8.09	8.12	8.15	7.92
2014	7.37	8.09	8.12	8.19	8.11	7.98
Average	7.31 ^{B*}	8.05 ^A	8.11 ^A	8.16 ^A	8.13 ^A	
Potassium Applications Zone (KAZ)						
Years	K ₀ NP	K ₁ NP	K ₂ NP	K ₃ NP	K ₄ NP	Average
2013	8.98	9.27	9.75	9.78	9.94	9.54
2014	9.14	9.64	9.70	9.87	9.73	9.62
Average	9.06 ^{C*}	9.46 ^B	9.73 ^{AB}	9.83 ^{AB}	9.84 ^A	

The capital letters represent the results of the Duncan test (*, P < 0.05) for averages, and lower case letters show the results of the Duncan test (*P < 0.05) for interaction between years and treatments. There is no statistical difference between values not shown with letters.

Total sugar content in fruit was recorded as 9.32 mg 100 g⁻¹ at the highest N₃PK dose in NAZ. Against the control dose, a 15% increase in the fruit sugar content was determined at the N₃PK dose. However, compared to the first year, the total sugar rate in the second year increased by approximately 12%. But, the sugar content decreased at the final N dose. The sugar content decreases at increasing nitrogen doses (Kumar et al., 2006). The excess of nitrogen is elongated the vegetative progress term of the plant, delays blooming, and decreases sugar synthesis (Fageria et al., 2011). The total sugar

content was found to be 8.16 mg 100 g⁻¹ at the P₃NK dose and an increase of approximately 12% was determined compared to the control in PAZ. There was no statistical difference between years in the PAZ. However, the sugar content was noted as the highest in KAZ, with an average of 9.84 mg 100 g⁻¹ in K₄NP. Despite the increasing potassium doses, there was an increase in the total sugar content of the fruit. An increase of about 9% was obtained in the last dose compared to the control level. Plant nutrition with phosphorus and potassium contributes positively to sugar metabolism (Mengel, 1991).

3.6. Invert sugar

The invert sugar content in chestnuts was found to be very low compared to total sugar. The total sugar ratio of invert sugar was determined as 6.5, 6.2, and 12.6% in NAZ, PAZ, and KAZ, respectively. Year x fertilizer interaction was found to be statistically insignificant in all fertilizer application zones. Nevertheless, significant statistical differences were obtained both year and fertilizer doses in PAZ. However, K doses also made statistically significant contributions to the amount of invert sugar in the fruit (Table 7).

Table 7. Chestnut invert sugar (g 100 g⁻¹) contents after balanced N:P:K applications

Years	Nitrogen Application Zone (NAZ)					Average
	N ₀ PK	N ₁ PK	N ₂ PK	N ₃ PK	N ₄ PK	
2013	0.573	0.550	0.590	0.580	0.583	0.575
2014	0.543	0.553	0.570	0.577	0.497	0.548
Average	0.558	0.552	0.580	0.578	0.540	
Years	Phosphorus Applications Zone (PAZ)					Average
	P ₀ NK	P ₁ NK	P ₂ NK	P ₃ NK	P ₄ NK	
2013	0.477	0.514	0.507	0.443	0.450	0.478 ^{B*}
2014	0.523	0.527	0.496	0.499	0.490	0.507 ^A
Average	0.500 ^{AB*}	0.520 ^A	0.501 ^{AB}	0.471 ^B	0.470 ^B	
Years	Potassium Applications Zone (KAZ)					Average
	K ₀ NP	K ₁ NP	K ₂ NP	K ₃ NP	K ₄ NP	
2013	0.537	0.611	0.690	0.640	0.610	0.618
2014	0.560	0.607	0.610	0.557	0.610	0.589
Average	0.548 ^{B*}	0.609 ^A	0.650 ^A	0.599 ^{AB}	0.610 ^A	

The capital letters represent the results of the Duncan test (*, P < 0.05) for averages, and lower case letters show the results of the Duncan test (*P < 0.05) for interaction between years and treatments. There is no statistical difference between values not shown with letters.

Increasing nitrogenous fertilizer applications showed a situation that did not affect invert sugar among all fertilizer applications. However, the highest fruit invert sugar content was detected at the N₂PK application dose (0.580 mg 100 g⁻¹). Compared to the first year, the invert sugar content decreased by 5% in the second year. This situation paralleled the increase in nitrogen doses. But, the invert sugar content in the fruit decreased by 7.4% in the last two doses. The invert sugar content decreases in excess nitrogen doses (Fageria et al., 2011).

Phosphorus applications also affect showed similarly to NAZ. The highest invert sugar content for P₁NK averaged 0.520 mg 100 g⁻¹, while it tended to decrease as increasing phosphorus doses. There was a 10.6% rate decline in the final P dose. Yet, against the first year, invert sugar increased by 6% in the second year in PAZ. The invert sugar content in the fruit gave positive responses to increasing K doses. The fastest increase occurred in this application zone. Compared to the control level, the K₂NP dose increased the fruit invert sugar content by about 19%. Whereas, there was a 5% decrease in the second year compared to the first year between the implementation years. In spite of potassium does not constitute a part of the structure of plant components, it increases the quality of fruits by providing the desired sugar-acid balance and maturing of the fruit (Kumar et al., 2006).

3.7. Correlation analyses

According to correlation analyses, a statistically significant strong positive relationship was found between chestnut fruit yield and all fertilizer application doses (Table 8). While there was a strong positive correlation between N and K applications on total protein content, P doses had no significant effect on fruit protein content. A statistically significant and strong correlation was noted

between carbohydrate and starch contents and P and K applications. In addition, it has been determined that N has no effect on both carbohydrate and starch mechanisms. All applications made statistically significant and positive contributions to the total sugar ratio. A negative correlation was found between fruit invert sugar content P applications. However, statistically insignificant relationships were estimated between invert sugar in fruit and N and K applications.

Table 8. Relationship of chestnut yield and some quality properties due to balanced N: P: K applications according to Pearson's correlation model

Qualitative and quantitative parameters	Fertilizer Application Zones		
	NAZ	PAZ	KAZ
Yield (kg tree ⁻¹)	0.620**	0.424*	0.752**
Total protein (g 100 g ⁻¹)	0.599**	-0.239 ^{ns}	0.617**
Carbohydrate (g 100 g ⁻¹)	0.122 ^{ns}	0.415*	0.492**
Total starch (g 100 g ⁻¹)	0.041 ^{ns}	0.505*	0.439*
Total sugar (g 100 g ⁻¹)	0.385*	0.729**	0.678**
Invert sugar (g 100 g ⁻¹)	-0.026 ^{ns}	-0.424*	0.289 ^{ns}

** . Correlation is significant at the 0.01 level, * . Correlation is significant at the 0.05 level, ns: not significant

4. Conclusions

The results of this study proved that balanced macro fertilization has an effect on the yield and some quality characteristics of chestnuts. However, chestnut tree is still accepted in the world as a forest tree. Therefore, the chestnut plant does not sufficiently care and cultural processes. Yet, as in other cultivated plants, chestnut needs some cultural processes such as soil cultivation, fertilization and irrigation. Although this study is a regional study, it seems effective in revealing the nutrients that affect the yield and quality of a mature chestnut tree and drawing a certain road map. Also, different regional macro plant nutrients applied in the same garden presented various evidence for the parallelism of the study.

In the light of all the data, the most appropriate N dose to be applied to the soil per tree in mid-April was determined as 3.3 lb, P dose 1.65 lb and K dose 3.3 lb. In addition to this situation, it is necessary to make organic fertilization in order to increase the organic matter in chestnut orchards. Thus, the effectiveness of other chemical fertilizers applied to the soil will increase and some physical and biological properties of the soil will be enriched in chestnut orchards.

References

- AOAC, (1990). *Association of Official Agricultural Chemists Official Methods of Analysis*. 15th ed. Washington, DC: AOAC.
- Centeno, A. & Campo, M.G. (2011). Response of mature olive trees with adequate leaf nutrient status to additional nitrogen, phosphorus and potassium fertilization. *Acta Hort* 888, 277-280.
- Ertürk, Ü., Mert, C. & Soylu, A. (2006). Chemical composition of fruits of some important chestnut cultivars. *Brazilian Archives of Biology and Technology* Vol.49, n.2:pp. 183-188.
- Fageria, N.K., Baligar, V.C. & Jones, C.A. (2011). *Growth and Mineral Nutrition of Field Crops*. 3rd Edition, CRC Pres, Boca Raton, FL, USA.
- FAO. (2019). World chestnut production list. Website <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Visited on date: 03/06/ 2020.
- Güneş, A., Inal, A., Bağcı, E.G. & Kadioğlu, Y.K. (2010). Combined effect of arsenic and phosphorus on mineral element concentrations of sunflower. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 41, 361-372.
- Imas, P. (1999). *Quality aspects of K nutrition in horticultural crops. Workshop on Recent Trends in Nutrition Management in Horticultural Crops*. Dapoli, Maharashtra, India.
- Kacar, B. & Katkat, V. (2011). *Bitki Besleme*. Nobel Akademik Eğitim Danışmanlık, Yayın No: 1219. ISBN: 978-605-320-121-2. 678 s. 6. Basım. Ankara.
- Kumar, A.R., Kumar, N. & Kavino, M. (2006). Role of potassium in fruit crops - A review. *Agric.Rev.*,27(4), 284-291.

- Mengel, K. (1991). *Ernährungund Stoffwechsel der Pflanze*. G.F.V. Jena.
- Rodrigues, M.A., Pereira, A., Cabanas, J. E., Dias, I., Pires, J. & Arrobas, M. (2006). Crops useefficiency of nitrogen from manures permitted in organic farming. *Eur. J. Agron* 25, 328-335.
- Ross, F.A. (1959). *Dinitrophenol Methods for Reducing Sugars. Potato Processing*, In: Talburt, W.F. And Smith, O. (Eds.). A VI Publishing Comp. Connecticut. pp. 469-470.
- Rutter, P.A., Miller, G. & Payne, J.A. (1990). Genetic resources of temperate fruit and nut crops. *Acta Horticulturae*, No: 290, Vol: II, Chapter: 16, 761-788.
- Yağmur, B., Okur, B., Tuncay, Ö. & Eşiyok, D. (2019). Farklı Ekim Zamanı ve Azotlu Gübre Uygulamalarının Tere (*Lepidium sativum* L.) Bitkisinin Azot Fraksiyonları ve Bitki Besin Maddesi İçeriğine Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (3) , 388- 396.
- Vosconcelos, M.C.M.B., Bennet, R.N, Rosa, E.A.S., & Ferreira- Cardoso, J.V. (2010). Composition of European chesnut (*Castanea sativa* Mill.) and association with health effects: fresh and processed products. *J. Sci. Food Agr.* 90. p: 1578-1589
- Wahl, T. (2002). *The Iowa Chestnut Grower's Primer*. Published 2002, Revised 2017 2nd Edition. P:10-11.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Ankara, Eskişehir ve Konya İlleri Marul Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalık Etmenlerinin Tespiti

Birol AKBAŞ¹, Ali Ferhan MORCA^{2*}, Sevgi COŞKAN³

^{1,2,3} Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9797-7536> ²<https://orcid.org/0000-0002-7480-922X> ³<https://orcid.org/0000-0002-3589-6041>

*Sorumlu yazar e-posta: ferhan.morca@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 02.12.2020
Kabul: 03.05.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.818644

Anahtar kelimeler

DAS-ELISA,
Marul iri damar hastalığı,
RT-PCR,
Virüs,
Yaygınlık.

Öz: Türkiye’de önemli bir yere sahip olan kışlık sebze üretimi, iklim koşullarının uygun olduğu birçok bölgede yapılmaktadır. Önemli bir kışlık sebze olan ve İç Anadolu Bölgesinin farklı illerinde üretimi yapılan marul bitkisini kalite ve verim açısından etkileyen birçok viral hastalık etmeni bulunmaktadır. Bu önemli viral hastalık etmenlerinin durumunun tespit edilmesi amacıyla 2017-2018 yıllarında Ankara, Eskişehir ve Konya illeri marul alanlarında sürveyler yapılarak, 164 adet örnek toplanmıştır. Toplanan örnekler, 14 farklı virüs [*Beet western yellows virus* (BWYV), *Broad bean wilt virus* (BBWV), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), *Radish mosaic virus* (RaMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Turnip mosaic virus* (TuMV)] serolojik olarak DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Serolojik olarak ticari kiti bulunmayan 2 virüs için [*Lettuce big vein associated virus* (LBVaV) ve *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)] moleküler bir yöntem olan RT-PCR kullanılmıştır. Ayrıca serolojik olarak bölgede yüksek oranda tespit edilmiş olan MiLBVV moleküler yöntemlerle doğrulanmıştır. Yapılan analizler sonucunda LBVaV, MiLBVV, LMV, TNV etmenleri sırasıyla % 31.7, 19.5, 7.3 ve 3.7 oranında tespit edilmiştir. En yaygın viral etmenlerin LBVaV ve MiLBVV olduğu görülmüştür.

Determination of Virus Diseases in Lettuce Production Areas of Ankara, Eskisehir, and Konya Provinces of Turkey

Article Info

Received: 02.12.2020
Accepted: 03.05.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.818644

Keywords

DAS-ELISA,
Lettuce big vein disease,
RT-PCR,
Virus,
Prevalence.

Abstract: Winter vegetable cultivation is realized in several having suitable climate condition region of Turkey. Lettuce, an important winter crop for Turkey is cultivated in various provinces of the Central Anatolia Region. A lot of virus agents affect lettuce plants in the sense of quality and quantity. To identify these viral agents, surveys were conducted in lettuce cultivation areas in Ankara, Eskisehir and Konya provinces and 164 samples were collected during the vegetation period of 2017 and 2018. Collected samples were tested serologically by DAS-ELISA tests using specific commercial antibodies against the following viruses: *Beet western yellows virus* (BWYV), *Broad bean wilt virus* (BBWV), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), *Radish mosaic virus* (RaMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Turnip mosaic virus* (TuMV).

Samples were also molecularly analysed by RT-PCR against 2 viruses [*Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV) and *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)] that have no commercial serological kits. Additionally, MiLBVV that was serologically detected at a high rate in the region, was also confirmed by RT-PCR analysis in the study. As a result of the analysis, infection rates of LBVaV, MiLBVV, LMV, and TNV were found as 31.7, 19.5, 7.3 and 3.7 %, respectively. With the present study, LBVaV and MiLBVV were determined to be the most prevalent viruses in lettuce in the region.

1. Giriş

Salata grubu yaprağı yenen en önemli bitkilerin başında gelen marul bitkisi (*Lactuca sativa* L.) Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde iklim ve coğrafi koşullara bağlı olarak açık alan veya örtü altında yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dünyada marul üretimi yaklaşık olarak 27.3 milyon ton olup, Çin 15 546 415 ton üretim miktarı ile ilk sırada yer alırken, Türkiye 487 543 ton üretim miktarı ile dünyada 8. sırada yer almaktadır (FAO, 2018). İç Anadolu Bölgesi 108 849 ton marul üretim miktarı ile Türkiye üretiminin yaklaşık % 22.33'ünü karşılamaktadır. İç Anadolu Bölgesinde marul üretiminin en yaygın yapıldığı iller sırası ile Ankara, Eskişehir, Karaman ve Konya'dır (TÜİK, 2018).

Bütün bitkilerde olduğu gibi marul bitkisi de birçok zararlı organizmadan etkilenmektedir. Viral etmenler de marulu olumsuz olarak etkileyen önemli bir patojen grubudur. Uygun olmayan çevre ve yetiştirme koşullarında virüslerin marul yetiştiriciliğinde %100'e varan verim kaybına yol açtığı bilinmektedir. Marul iri damar hastalığına (Lettuce big-vein disease) neden olan virüslerin marul ekiliş alanlarında % 50-70'e varan kayıplara yol açtığı (Resende ve Cupertino, 1995; Moreno ve Fereres, 2012; Maccarone, 2013) ve özellikle son yıllarda dünyada marul yetiştiriciliği yapılan hemen her yerinde yaygın olarak görüldüğüne dair birçok rapor mevcuttur (Bernal-Vicente ve ark., 2018; Opatovsky ve ark., 2019; Salem ve ark., 2020). Dünyada marul bitkisinde virüs çalışmaları 1920'li yıllarda başlarken (Jagger, 1921; Newhall, 1923), Türkiye'de ilk çalışmalar Özalp (1964) ve Kurçman (1969) tarafından Ege Bölgesi'nde gözleme dayalı olarak başlatılmıştır. Bunu takip eden yıllarda Akdeniz Bölgesi marul alanlarında LMV (Yılmaz,1981), akabinde LMV ile birlikte CMV ve BBWV (Erkan ve Schlosser, 1985), İzmir ilinde LMV (Fidan ve Türkoğlu, 1988), Doğu Anadolu Bölgesinde LBVaV (Döken ve ark., 1993), Güneydoğu Anadolu Bölgesinde LMV (Yılmaz ve ark., 1995), Yalova'da LMV (Uzunoğulları ve Beşirli, 2011) varlığı rapor edilmiştir. Bu virüslerin yanında marulda az oranda da olsa TSWV ve AMV enfeksiyonları da belirlenmiştir (Özdemir ve Erilmez, 2007; Yardımcı ve Kılıç, 2009; Kamberoğlu ve Alan, 2011).

Özet olarak marul yetiştiriciliğinde 20'ye yakın virüs hastalığı saptanmış, ancak bunlardan yaklaşık 10 tanesinin Akdeniz ve Avrupa bölgesinde ekonomik olarak önemli olduğu Moreno ve Fereres, (2012) tarafından bildirilmiştir. Ülkemizde ise lokal olarak marul yetiştiriciliği yapılan hemen hemen tüm bölgelerde 7 farklı virüsün varlığı rapor edilmiştir (Tekinel ve ark., 1969; Fidan ve Türkoğlu, 1988; Döken ve ark., 1993; Bozdoğan, 2009; Alan, 2012; Erkan ve ark., 2013; Sertkaya, 2015). Türkiye'de son yıllarda yapılan çalışmalarda Marul iri damar hastalığına yol açan MiLBVV ve LBVaV'nin baskın olarak yer aldığı farklı çalışmalarda rapor edilmiştir (Sertkaya, 2015; Randa-Zelyüt, 2016; Ertunç ve Randa-Zelyüt, 2019; Sağlam ve Kamberoğlu, 2019).

Bu çalışma, Ankara, Eskişehir ve Konya illeri açık alan ve örtü altı marul yetiştiriciliği yapılan sahalarda, özellikle üreticilerden gelen şikâyetlerin viral kaynaklı olup olmadığının ortaya konulması amacıyla gerçekleştirilmiştir. İç Anadolu Bölgesinde marul alanlarında bu zamana kadar viral etmenlerin varlığının araştırılması amacıyla farklı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, bu çalışma ile 16 farklı viral etmenin varlığı araştırılarak, virüs kaynaklı problemlerin daha etkin bir şekilde ortaya konması planlanmıştır. Ayrıca son yıllarda tüm dünyada marul virüs hastalıklarının ana hastalığı olarak gözüken Marul iri damar hastalığının etmenleri olan MiLBVV ve LBVaV'nin bölgedeki son durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Sürvey çalışmaları ve örneklerin toplanması

Sürvey çalışmaları 2017-2018 yılları arasında iki farklı vejetasyon döneminde bölgede marul yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Ankara ilinin Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan; Konya ilinin Çumra ve Meram; Eskişehir ilinin Mihalgazi ve Tepebaşı ilçelerinde yapılmış ve virüs belirtisi gösteren 164 bitkiden örnek toplanmıştır.

2.2. Serolojik çalışmalar

Toplanan marul örnekleri 14 farklı virüs antiserumu ile (Çizelge 1) DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) metoduna göre analiz edilmiştir. DAS-ELISA testleri antiserumların temin edildiği firmaların (Loewe® Biochemica GmbH, Germany ve Agdia Inc. Elkhart, IN, USA) belirlediği protokollere uygun olarak yapılmıştır. Değerlendirmelerde negatif kontrol OD değerinin 2 katı ve üzeri olan örnekler enfekteli olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 1. DAS-ELISA analiziyle varlığı araştırılan viral etmenler

Etmen	Akronim	Etmen	Akronim
<i>Beet western yellows virus</i>	BWYV	<i>Tomato black ring virus</i>	TBRV
<i>Broad bean wilt virus</i>	BBWV	<i>Tobacco mosaic virus</i>	TMV
<i>Cucumber mosaic virus</i>	CMV	<i>Tomato spotted wilt virus</i>	TSWV
<i>Cauliflower mosaic virus</i>	CaMV	<i>Turnip mosaic virus</i>	TuMV
<i>Lettuce mosaic virus</i>	LMV	<i>Tobacco necrosis virus</i>	TNV
<i>Mirafiori lettuce big-vein virus</i>	MiLBVV	<i>Tobacco rattle virus</i>	TRV
<i>Tobacco streak virus</i>	TSV	<i>Radish mosaic virus</i>	RaMV

2.3. Moleküler çalışmalar

DAS-ELISA çalışmalarında ticari antiserumu bulunmayan “*Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)” ve “*Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV)” un tespiti için moleküler analizler yapılmıştır. Bununla beraber marul üretim alanlarındaki Marul iri damar hastalığına sebep olan etmenlerden biri olan ve DAS-ELISA çalışmalarına göre en yoğun olarak tespit edilen MiLBVV’de moleküler analizlere dahil edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda RNA yapısında olan bu üç virüse karşı ilk olarak total RNA ekstraksiyonu, ardından tek aşamalı RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) analizi gerçekleştirilmiştir.

2.3.1. Total RNA ekstraksiyonu

Nükleik asit ekstraksiyonu Foissac ve ark. (2001)’nin önerdiği yöntemde minör modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu protokole göre; 100 mg bitki dokusuna 1 ml ekstraksiyon tampon çözeltisi (6 M guanidine thiocyanate, 0.2 M sodium acetate, 25 mM EDTA, 1 M potassium acetate, % 2.5 PVP-40 ve % 1 mercaptoethanol) ilave edilip, ezilerek karıştırılmıştır. Bu karışımdan 500 µl alınarak 100 µl % 10 sodium lauryl sulfate solüsyonu ilave edilip karıştırılmıştır. Bu karışım 70 °C de 10 dk ara sıra karıştırılarak inkübe edildikten sonra 5 dk buzda bekletilmiştir. Daha sonra 14.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiş ve tüpün üzerinde kalan yaklaşık 300 µl sıvı yeni bir tüpe transfer edildikten sonra üzerine 150 µl ethanol, 35 µl silika jel (Silicon Dioxide, pH: 2) ve 300 µl 6 M sodium iodide ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 10 dk çalkalayıcıda karıştırılarak bekletildikten sonra 6.000 rpm de 1.5 dk santrifüj edilmiştir. Sonra üst sıvı atılmış ve pelet 500 µl yıkama tamponu (0.05 mM EDTA, 50 mM NaCl ve % 50 ethanol içeren 10 mM Tris-HCl) içerisinde çözdürülmüştür. Yıkama işlemi iki kez tekrarlandıktan sonra pelet 75 µl RNase-free su içerisinde çözdürülmüştür. Son olarak 70 °C de 4 dk kuru blokta inkübe edilip, 14.000 rpm de 3 dk santrifüj edilmiş ve üst sıvı yeni bir tüpe alınmıştır. Elde edilen total RNA’ların miktarı ve saflığı elektrospektrofotometrede (Nanodrop 2000, Thermo-USA)

ölçüldükten sonra her bir örnek konsantrasyonu 50 ng/µl olacak şekilde seyreltilerek, RNA'lar -20 °C'de saklanmıştır.

2.3.2. RT-PCR

Ekstraksiyon aşamasından sonra elde edilen total RNA'lar virüslere spesifik primerler (Çizelge 2) kullanılarak tek aşamalı RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. RT-PCR karışımı toplam hacmi 25 µl olacak şekilde her 3 virüs için; dH₂O 11.4 µl, 5X Go Taq reaksiyon tampon solüsyonu 7 µl, 25 mM MgCl₂ 1.25 µl, 10 mM dNTPs 0.7 µl, F-R primer 2µl (1+1), Taq DNA polimeraz (Promega-M3005) 0.25 µl (1.25 U/µl), RT enzim (Thermo-EP0441) 0,2 µl ((200 U/µl), RNase (NEB- M0243L) 0,2 µl ve RNA 2 µl (50 ng/µl) olarak hazırlanmıştır.

Çizelge 2. TICV, LBVaV ve MiLBVV etmenleri için RT-PCR'da kullanılan primerler

Virüs adı	Primer adı ve dizisi	Baz boyutu	Kaynak
TICV	F- 5'-TCA GTG CGT ACG TTA ATG GG-3' R- 5'-CAC AGT ATA CAG CAG CGG CA-3'	501 bp	Hartono ve ark., 2003
LBVaV	VP 248- 5'-CGC CAG GAT CTT TGA TCC ATC TG-3' VP 249- 5'-TTG CGA CAT GTT CCT CCT CAT CG-3'	296 bp	Navarro ve ark., 2004
MiLBVV	VP 286- 5'-TAT CAG CTC ACA TAC TCC CTA TCG-3' VP 287- 5'-CAA CTA GCT CAG AAT ACA TGC AG-3'	469 bp	Navarro ve ark., 2004

Çizelge 2'de verilen primerler ile her virüse özgü reaksiyon koşulları optimize edilerek hazırlanmıştır. LBVaV için RT-PCR koşulları 50 °C'de 30 dk, 95 °C'de 5 dk, 35 döngü 94 °C 30 sn, 42 °C 45 sn ve 72 °C'de 45 sn'yi takiben son uzama (extension) için 72 °C'de 7 dk olarak uygulanmıştır. MiLBVV için 42 °C'de 50 dk, 95 °C'de 5dk, 35 döngü 94 °C 30 sn, 59 °C 45 sn ve 72 °C'de 1 dk'yi takiben son uzama (extension) için 72 °C'de 10 dk olarak uygulanmıştır. TICV için 50 °C'de 30 dk, 94 °C'de 5 dk, 35 döngü 94 °C 15 sn, 57°C 30 sn ve 72 °C'de 30 sn'yi takiben son uzama (extension) için 72 °C'de 5 dk olarak uygulanmıştır. PCR ürünleri Pronasafe nükleik asit boyası (Conda, Madrid, Spain) ilaveli % 1.5'lük agaroz jelde 100 V'da 75 dk koşutularak, UV transilüminörde görüntülenmiş ve elde edilen bant görüntüleri değerlendirilmiştir.

3. Bulgular

3.1. Arazi çalışmaları

Ankara ili Ayaş, Beypazarı, Nallıhan; Eskişehir ili Tepebaşı, Mihalgazi; Konya ili Çumra ve Meram marul ekiliş alanlarında (sera ve açık alan) yapılan sürveylerde, marullarda mozaik, halkalı klorotik ve nekrotik lekeler, kıvrılma, şekil bozukluğu, damarlarda şişme ve cücelik gibi karakteristik viral belirtiler gözlenmiştir. Ancak en yaygın görülen belirtilerin damarlarda açılma, şişkinlik, yapraklarda nekroz ve şekil bozukluğu olduğu (Şekil 1), bazı bölgelerde söz konusu belirtilerin tarla/sera kenarlarından başlayıp içeri doğru lokal olarak yer aldığı görülmüştür.



Şekil 1. Arazi çalışmalarında görülen nekroz (a), şekil bozukluğu (b) ve cüceleşme (c) belirtileri.

3. 2. Serolojik analiz sonuçları

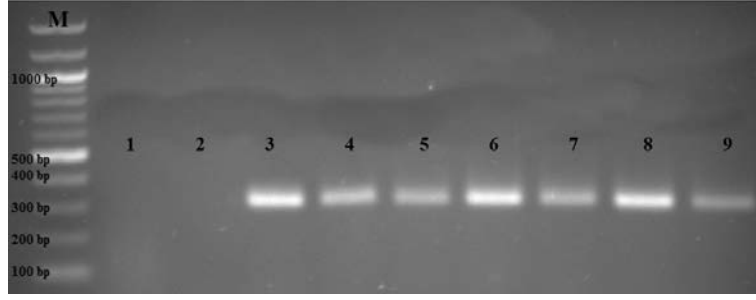
DAS-ELISA ile 14 virüs için yapılan analiz sonuçlarına göre toplam 164 marul örneğinden 40 adetinin bir veya birden fazla virüs ile enfekteli olduğu geriye kalan 124 örneğin herhangi bir virüs ile enfekteli olmadığı belirlenmiştir. Ankara ilinden toplanan 66 örneğin 22'sinin, Eskişehir ilinden toplanan 82 örneğin 18'nin virüs ile enfekteli olduğu bulunmuştur. Konya'dan toplanan 16 örneğin tamamı negatif sonuç vermiştir. DAS-ELISA testlerinde pozitif 40 adet marul bitkisinin MiLBVV, LMV ve TNV etmenleri ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. İl-İlçe bazında ELISA test sonucuna göre tespit edilen virüsler

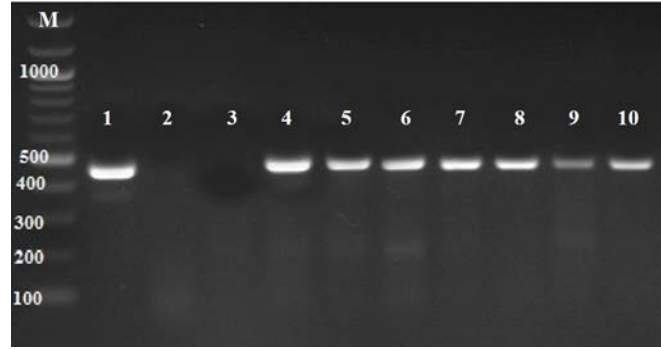
İl	İlçe	MiLBVV	LMV	MiLBVV+LMV	TNV	Enfekteli Örnek Sayısı
Ankara	Ayaş	-	-	-	-	-
	Beypazarı	8	8	6	-	22
	Nallıhan	-	-	-	-	-
Eskişehir	Tepebaşı	8	-	-	6	14
	Mihalgazi	-	4	-	-	4
Konya	Çumra	-	-	-	-	-
	Meram	-	-	-	-	-
Genel Toplam		16	12	6	6	40

3. RT-PCR sonuçları

Moleküler çalışmalarda üç viral etmen için ayrı ayrı yapılan tek aşamalı RT-PCR sonuçlarına göre TICV hariç örneklerin LBVaV ve MiLBVV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. LBVaV için VP 248-249 primer çifti ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonucunda beklenen 296 nt'lik PCR ürünlere ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 2'de ve MiLBVV için VP 286-287 primer çifti ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonucunda beklenen 469 nt'lik PCR ürünlerine ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 2. LBVaV için VP 248-249 primer çiftleri kullanılarak yapılan RT-PCR amplifikasyonuna ait agaroz jel görüntüsü. (M; 100 bp DNA Markör, 1; Su Kontrol 2; Negatif Kontrol, 3; Pozitif Kontrol, 4-9; LBVaV izolatları).



Şekil 3. MiLBVV için VP 286-287 primer çiftleri kullanılarak yapılan RT-PCR amplifikasyonuna ait agaroz jel görüntüsü. (M; 100 bp DNA Markör, 1; Pozitif Kontrol 2; Negatif Kontrol, 3; Su Kontrol, 4-10; MiLBVV izolatları).

RT-PCR çalışmalarında MiLBVV'nin DAS-ELISA ile tespitinden farklı olarak 32 örneğin fazladan enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Ankara ilinden alınan 66 marul örneğinden 58 adetinde, Eskişehir ilinde alınan 82 marul örneğinin 50'sinde tek ya da karışık LBVaV ve MiLBVV enfeksiyonu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda Ankara ve Eskişehir illerinde enfeksiyon oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Ankara ilinde 16 örnekte, Eskişehir ilinde 8 örnekte her iki virüsün ortak enfeksiyonu tespit edilmiştir. Konya ilinden toplanan 16 örneğin tamamında herhangi bir virüs enfeksiyonu belirlenmemiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. LBVaV ve MiLBVV için yapılmış olan RT-PCR sonuçları

Sürvey Yapılan İller	Toplam Örnek Sayısı	LBVaV	MiLBVV	LBVaV+MiLBVV	Temiz Örnek Sayısı
Ankara	66	26	16	16	8
Eskişehir	82	26	16	8	32
Konya	16	-	-	-	16
Toplam	164	52	32	24	56

4. Tartışma ve Sonuç

Ankara, Eskişehir ve Konya illeri marul yetiştiriciliği yapılan alanlarda 2017-2018 yıllarında virüs şüphesi uyandıran 164 örneğin 108'nin en az bir virüs ile enfekteli olduğu serolojik ve moleküler testlerle belirlenmiştir. Cüceleşme, yaprak kıvrıcıklığı, genel sararma, mozaik ve damarlarda şişme belirtileri gösteren örneklerin alındığı bitkilerin çeşitli virüsler ile enfekteli olduğu ve bunların daha önce bu konuda yapılan çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Colariccio ve ark., 2005; Uzunoğulları ve Beşirli, 2011; Ertunç ve Randa Zelyüt, 2019; Sağlam ve Kamberoğlu, 2019).

Yapılan serolojik testlerde, Ankara ilinde 14 adet marul bitkisinde MiLBVV'nin varlığı tespit edilmiş olmasına rağmen RT-PCR sonucunda bu sayının 32'ye çıktığı; benzer şekilde Eskişehir ilinden

toplanan örneklerde bu sayının 8 den 24 e çıktığı görülmüştür. Bu da RT-PCR'ın MiLBVV tespitinde daha hassas sonuçlar verdiğini bir kez daha göstermiştir (Navarro ve ark., 2002; Navarro ve ark., 2004).

Sürvey yapılan 2017-2018 yıllarında Konya ilinden virüs şüphesi ile toplanan 16 örneğe yapılan serolojik ve moleküler analizler neticesinde herhangi bir virüs tespit edilmemesi, belirtilerin bitki besin maddesi noksanlığı, hatalı tarımsal işlemler ya da uygun olmayan iklim koşulları gibi abiyotik sorunlardan kaynaklı belirtilerden olduğu kanaatini uyandırmıştır (Kennelly ve ark, 2012).

Ankara ili marul ekiliş alanlarında RT-PCR analizine göre göre 16 bitkide, Eskişehir ilinde ise 8 bitkide LBVaV+MiLBVV'nin karışık enfeksiyonu tespit edilmiştir. Karışık enfeksiyonların görüldüğü bitkilerde belirtilerin daha şiddetli olduğu ve bitkilerin ticari değerini tamamıyla kaybettiği gözlenmiştir (Şekil 4). Sanches ve ark.(2008) ve Heidari ve ark. (2010) da benzer şekilde marul bitkisinde karışık viral enfeksiyonların görüldüğünü ve bu durumun belirtileri daha da şiddetli kıldığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4. LBVaV ve MiLBVV'nin karışık enfeksiyonunun marul bitkisinde oluşturduğu aşırı damar şişkinliği belirtisi.

Daha önce yapılan çalışmalarda (Randa-Zelyüt, 2016; Ertunç ve Randa-Zelyüt, 2019) Ankara ilinde varlığı saptanan MiLBVV ve LBVaV etmenlerinin, üretim alanlarında yaygın olarak bulunmasının nedeni vektör *Olpidium brassicae*'ye bağlanmıştır. Virüslerin toprakta vektörünün dinlenme sporlarında uzun süre canlı kalabildiği ve salma sulama ile sporların harekete geçmesiyle aktif duruma geçtiği düşünülmektedir. Enfekteli bitkilerin daha çok salma sulamanın yapıldığı yerlerde yoğunlaşması bu ihtimali güçlendirmiştir. Aynı şekilde sürvey yapılan illerde virüsün yoğun olarak görüldüğü alanlarda ekim nöbeti yapılmadan art arda ekim yapıldığı saptanmış ve burada vektörlerin payının oldukça yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Benzer şekilde Heidari ve ark. (2010) art arda yapılan marul yetiştiriciliğinde MiLBVV ve LBVaV'nin epidemiyolojisine sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Marul iri damar hastalığına yol açan virüslerin tek başına enfeksiyonlarının yanında, karışık enfeksiyonlarının da söz konusu olduğu farklı çalışmalarda belirlenmiştir (Salem ve ark., 2020). Benzer şekilde Ankara ili marul sahalarında LBVaV'nin tek başına veya MiLBVV ile karışık enfeksiyon oluşturduğu, Eskişehir ilinde ise her iki virüsün karışık enfeksiyonunun yanında tek başına ayrı ayrı enfeksiyon oluşturduğu da görülmüştür.

Marul bitkisinde LBVaV ve MiLBVV etmenleri kadar tahribata sebep olan TSWV enfeksiyonuna sürvey yapılan illerde rastlanmamıştır. Türkiye'de farklı araştırmacılar tarafından (Tekinel ve ark., 1969; Bozdoğan, 2009; Kameroğlu ve Alan, 2011; Sertkaya, 2015) marul bitkisinde

bu virüsün enfeksiyonu tespit edilmesine rağmen bu çalışmada varlığına rastlanmamıştır. Bu durumun İç Anadolu Bölgesinde marul ekim döneminin Akdeniz kuşağına göre daha soğuk dönemlerde yapılması ve vektörü olan Thrips popülasyonunun erken dönemde ortaya çıkmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı şekilde daha önceki çalışmalarda saptanan diğer önemli bir virüs olan CMV'ye de bu çalışmada rastlanmamıştır (Fidan ve Türkoğlu, 1988; Sertkaya, 2015). Bu bulgular Ertunç ve Randa-Zelyut (2019)'un Ankara ili marul alanlarında yapmış olduğu çalışmayla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak 2017-2018 yıllarında Ankara ve Eskişehir illerinde LBVaV-MiLBVV enfeksiyonunun düzenli olarak tespit edilmesinde vektör popülasyonu ile özellikle düzensiz iklim şartlarının (aşırı sıcak, kuraklık, nem, don) etkili olduğunu düşünmekteyiz. Marul yetiştiriciliği yapılan alanların sürekli aynı ürün için kullanılması, hastalık oranının artmasında birinci sebep olarak görülmektedir. Üretim alanlarında ekim nöbeti uygulamalarına önem verilmesi ve bitki artıklarının vektör popülasyonunun artmasına sebep olması nedeniyle üretim alanlarından kesinlikle uzaklaştırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmada ayrıca serolojik olarak tespit edilen LMV ve TNV etmenlerinin RT-PCR analizlerinin yapılarak, LBVaV-MiLBVV izolatları ile beraber dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi ve izolatların genetik çeşitliliğinin araştırılmasının gerekli olduğunu kanaatine varılmıştır.

Kaynakça

- Alan, B. (2012). *Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Bazı Kışlık Sebzelerde Hastalık Yapan Virüslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu*. (Doktora), Çukurova Üniv. Fen Bil. Ens. Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.
- Bernal-Vicente, A., Donaire, L., Torre, C., Gómez-Aix, C., Sánchez-Pina, M. A., Juárez, M., Hernando, Y., & Aranda, M. A. (2018) Small RNA-Seq to Characterize Viruses Responsible of Lettuce Big Vein Disease in Spain. *Frontiers in Microbiology* 9, 3188, 1-16.
- Bozdoğan, V. (2009). *Antalya ilinde domates, biber ve marul yetiştirilen alanlarda Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus, TSWV)'nin saptanması*. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi ADANA.
- Colariccio, A., Chaves, A. L., Eiras, M., Chagas, C. M., & Roggero, P. (2005). Detection of Varicosavirus and Ophiovirus in lettuce associated with lettuce big-vein symptoms in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 30(4), 416-419.
- Döken, M. T., Açıkgöz, S., & Demirci, E. (1993). Erzurum, Türkiye'de marulda görülen büyük damar virüsü hastalığı. *Türk Fitopatoloji Dergisi*, 22 (1), 41-43.
- Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C., Duman, İ. & Ergün, M. (2013). İzmir ili ve kullanılmış bazı kışlık sebzelerde viral etmenlerin saptanması. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50 (3), 311-322.
- Ertunç, F. & Randa-Zelyut, F. (2019). Virus diseases of lettuce in ankara province. *Int. International Journal of Agriculture, Forestry and Life Sciences*, 3(2), 202-206.
- FAO. (2018). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Erişim tarihi: 26 Ekim 2020.
- Fidan, Ü., & Türkoğlu, T. (1988). Ege Bölgesi marul bitkilerinde görülen virüs hastalıkları üzerinde ön çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 28 (1-2), 43-56.
- Foissac, X., Svanella-Dumas, L., Dulucq, M. J., Candresse, T., & Gentit, P. (2001). Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Hort.*, 550, 37-43.
- Hartono, S., Natsuaki, T., Sayama, H., Atarashi, H., & Okuda, S. (2003). Yellowing disease of tomatoes caused by *Tomato infectious chlorosis virus* newly recognized in Japan. *Plant Pathology* 69, 61– 64.
- Heidari, F., Koohi-Habibi, M., & Mosahebi, G. H. (2010) Identification and partial characterization of viral agent of *Lettuce big vein* in Tehran province. *Iranian Journal of Virology* 4(1), 17-22.
- Jagger, I. C., (1921). A transmissible Mosaic Disease of Lettuce. *Journal of Agricultural Research*, 20 (10), 737-739.
- Kameroğlu, M., & Alan, B. (2011). Occurrence of Tomato spotted wilt virus in lettuce in Çukurova region of Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(3), 431–434.

- Kennelly, M., O'Mara, J., Rivard, C., Miller, G.L. & D. Smith 2012. Introduction to abiotic disorders in plants. *The Plant Health Instructor*.
- Kurçman, S. (1969). *Türkiye kültür bitkilerinde virüs problemi ve çözümü üzerinde düşünceler* (Uzmanlık tezi).
- Maccarone, L. D. (2013). Relationships between the pathogen *Ospidium virulentus* and viruses associated with lettuce big-vein disease. *Plant Disease*, Vol. 97 No. 6, 700-707.
- Moreno, A. & Fereres, A. (2012). Virus Diseases in Lettuce in the Mediterranean Basin. *Advances in Virus Research*, Vol. 84, pp 247-288. Academic Press.
- Navarro, J. A., Botella, F., Sastre, P., Marhuenda, A., Sanchez-Pina, A., & Pallas, V. (2002). *Desarrollo de métodos moleculares para la detección de dos virus asociados con la enfermedad de las venas grandes de la lechuga y su aplicación a la identificación de reservorios naturales*. Proceedings of the XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, p.109.
- Navarro, J. A., Botella, F. A., Maruhenda, A., Sastre, P., Sanchez-Pina, M. A., & Pallas, V. (2004). Comparative infection progress analysis of Lettuce big-vein virus and Mirafiori lettuce virus in lettuce crops by developed molecular diagnosis techniques. *Phytopathology*, 94, 470-477.
- Newhall, A. G., (1923). Seed transmission of Lettuce mosaic. *Phytopathology*, 13 (2), 104-106.
- Opatovskaya, I., Elbaza, M., Doria, I., Avrahamb, L., Mordechai-Lebiushc, S., Dombrovskyd, A., & Tsrer (Lahkim), L. (2019). Control of lettuce big-vein disease by application of fungicides and crop covers. *Plant Pathology*, 68, 790-795.
- Özalp, M. O. (1964). İzmir'de sebzelerde görülen virüs hastalıkları. *Bitki Koruma Bülteni* 4(1), 18-25.
- Özdemir, S. & Erilmez, S. (2007, Ağustos). *Denizli ilinde yetiştirilen biber, patlıcan ve marul üretim alanlarında bazı viral etmenlerin saptanması*. Türkiye II.Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. Isparta, s.114.
- Randa-Zelyüt, F. (2016). *Ankara ili marul ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Resende, J. A. M., & Cupertino, E. P. (1995). Doença em hortaliças. *Informe Agropecuário*, 18, 18-27.
- Salem, N., Odeh, S., Muslem, M. A., Tahzima, R. (2020). Occurrence and partial genetic characterisation of Lettuce big-vein associated virus and Mirafiori lettuce big-vein virus infecting lettuce in Jordan. *Annals Applied Biology*, 177, 90-100.
- Sağlam, H. N., & Kamberoğlu, M. A. (2009) Identification and characterization of lettuce big vein disease (LBVD) in lettuce (*Lactuca sativa*) crops in Adana and Mersin provinces in Turkey. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(3), 315-321.
- Sanches, M. M., Krause-Sakate, R., & Pavan, M. A. (2008). Sequence diversity in the coat protein gene of lettuce big-vein associated virus and Mirafiori lettuce big-vein virus infecting lettuce in Brazil. *Summa Phytopathologica*, 34(2), 175-177.
- Sertkaya, G. (2015). Hatay ili marul ve ıspanak alanlarında bazı virüslerin araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. ISSN:1300-9362. 20(1), 7-12.
- Tekin, N., Dolar, M. S., Sağsöz, S., & Salcan, Y. (1969). Mersin bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 9, 1, 37-49.
- TÜİK. (2018). Türkiye İstatistik Kurumu. Tarım istatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/> Erişim tarihi: 25 Ekim 2020.
- Uzunoğulları, N., & Beşirli, G. (2011). *Yedikule marul (Lactuca Sativava L. var. longifolia) çeşidinde zarar yapan bazı viral etmenlerin tanınması*. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, Kahramanmaraş.
- Yardımcı, N., & Kilic, H. C. (2009). Tomato spotted wilt virus in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(18), 4539-4541.
- Yılmaz, M. A., (1981). Virüs partisi es associated with diseases of tomato and lettuce in Turkey. *Phytopathology Mediterranea*. 20, 79-80.
- Yılmaz, M. A., Baloğlu, S., Özaslan, M., & Güldür, M. E. (1995, Nisan). *GAP bölgesinde kültür bitkilerinde belirlenen virüsler*. GAP Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri.



Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science

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



Research Article (Aştırma Makalesi)

Effects of Different Main Soil Tillage Methods on The Vertical Distribution of Sunflower Seeds in The Soil Layer and Plant Development

Peter YANKOV^{*1}, Miglena DRUMEVA²

^{1,2}Technical University of Varna, Faculty of Manufacturing Engineering and Technologies, Department of Plant Production, Varna, Bulgaria

¹<https://orcid.org/0000-0002-7953-9871> ²<https://orcid.org/0000-0002-5236-1321>

*Corresponding author e-mail: psyankov@abv.bg

Article Info

Received: 05.07.2020

Accepted: 21.03.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.764441

Keywords

Distribution of seeds down the soil profile,
Main soil tillage,
Plant development.
Sunflower.

Abstract: The investigation was carried out on slightly leached chernozem soil type during 2014 – 2016. The effects of different soil tillage methods for sunflower on the vertical distribution of the seeds in the soil layer and the development of the plants were followed – ploughing at 24-26 cm, chisel ploughing at 24-26 cm, disking with disk harrow at 10-12 cm and no-tillage. The highest percent of sunflower seeds in the zone of the soil layer optimal for sowing (5-7 cm) were significantly placed in the areas cultivated with chisel-ploughing (62.1%). Under the other types of soil tillage, their amount decreased. When sowing was performed at a mean diurnal air temperature close to the norm (10.1 °C), the emergence of the plants in the variants with chisel ploughing, disking and no-tillage occurred significantly slower in comparison to ploughing. At higher mean diurnal air temperature (12.0 °C), only at the beginning of sunflower emergence some delay was observed depending on the type of the applied soil tillage. Under these conditions, a significant difference in the occurrence of the phenophases was determined in the variants with disking and direct sowing, as compared to the areas with ploughing. With the minimizing and exclusion of the soil tillage, the growth of the sunflower plants was significantly retarded at the initial stages of their development. At phenophase flowering, the plant height and the stem diameter were lowest in the areas cultivated with disking. The investigated types of soil tillage did not have a significant effect on the diameter of the sunflower heads.

Farklı Temel Toprak İşleme Yöntemlerinin Ayçiçeği Tohumlarının Toprak Katmanındaki Dikey Dağılımına ve Bitki Gelişimine Etkisi

Makale Bilgileri

Geliş: 05.07.2020

Kabul: 21.03.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.764441

Anahtar kelimeler

Tohumların toprağın derinliğine göre taksimatı,
Temel toprak işletilmesi,
Bitkilerin gelişmesi,
Ayçiçeği.

Öz: Araştırma, 2014-2016 tarihleri arasında General Toşevo kentine bağlı arazide, türünün tipik özelliklerine sahip çernezyom toprak tipi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Farklı temel toprak işleme yöntemlerinin ayçiçeği tohumlarının toprak tabakasındaki dikey dağılımına ve bitki gelişimine üzerindeki etkisi gözlemlendi: 24-26 cm derinlikte toprak sürme, 24-26 cm derinlikte devirmeden toprak işleme, 10-12 cm derinlikte diskli toprak işleme ve direkt ekim (sıfır). Ekim için en uygun toprak tabakası alanında (5-7 cm) en yüksek ayçiçeği çekirdeği yüzdesinin devirmeden toprak işlemenin yapıldığı (62.1%) bölgelerde olduğu istatistiksel olarak kanıtlanmıştır. Diğer toprak işleme yöntemleri kullanıldığında, onların miktarı azalır. Normal değerine yakın ortalama günlük hava sıcaklığı koşullarında (10.1 °C) ekim gerçekleştirildiğinde devirmeden toprak işleme, diskli toprak işleme ve sıfır işleme yöntemlerinin,

toprağı sürmeye kıyasla istatistiksel olarak daha yavaş ilerlediği tespit edilmiştir. Daha yüksek ortalama günlük hava sıcaklığı koşullarında (12.0 °C), kullanılan toprak işleme türüne bağlı olarak, sadece ayçiçeğin çimlenmesi süreci başlangıcında belirli bir gecikme gözlemlenir. Bu koşullar altında, diskli toprak işleme ve direkt ekim yöntemlerinin, toprak sürme yöntemine kıyasla, bu aşamanın seyrinde istatistiksel olarak kanıtlanmış bir farklılık tespit edilmiştir. Toprak işleme yöntemleri etkisinin en aza indirildiğinde veya göz ardı edildiğinde, ayçiçeği bitkilerinin gelişimlerinin ilk aşamalarındaki büyümeleri, istatistiksel olarak yavaşladığı tespit edilmiştir. Çiçeklenme fenofazında, ayçiçeği saplarının yüksekliği ve çapı diskli toprak işleme yöntemi kullanıldığı takdirde en küçük olduğu tespit edilmiştir. İncelenen toprak işleme yöntemlerinin, ayçiçeği tablasının çapı üzerinde istatistiksel olarak kanıtlanmış olan bir etkisi bulunmamaktadır.

1. Introduction

Sunflower is a main oil seed crop in Bulgaria. The different soil and climatic conditions in the country and the desire of the producers to obtain higher yields at lower cost price are the reasons to seek for cost effective agronomy practices when growing this crop (Yanchev and Kirchev, 2007; Delchev, 2013; Delibaltova and Dallev, 2017; Drumeva and Yankov, 2018). This includes also the ways for main tillage of soil.

During the last decades, wide usage of chemicals in conventional agriculture is being observed. It is based on the great offer and use of various mineral fertilizers and preparations for plant protections. This imposes the necessity to reconsider the significance of deep ploughing as a main means for increasing the effective soil fertility, and for control of weeds, diseases and pests on the grown cultural plants. On the other hand, a tendency towards permanent increase of the prices of fuels is also being observed, and ploughing is one of the most energy-consuming operations in agriculture (Zugec et al., 2000; Sin et al., 2008).

The ways for soil tillage depending on the used soil tillage tools and the technological processes related to them have different effects on the physical, chemical and biological properties of the soil. The main physical characteristics directly influenced by the applied types of soil tillage are the soil structure, the bulk density, the porosity, the moisture and the temperature. They, on their part, are important for the emergence, development and productivity of the grown agricultural crops (Licht and Al-Kaisi, 2005). Under the conditions of Bulgaria, the recommendable optimal depth for sowing of sunflower is from 5 to 7 cm (Klochkov et al., 1988). The applied ways for main and pre-sowing soil tillage have different effects on the percent distribution of the structural agents in the zone of seed planting (Guérifa et al., 2001). Some of them increase the share of the large fractions, while others lead to stronger dusting of soil (Yankov, 2009a). This is a prerequisite a part of the seeds to fall to greater or lower depth (Yankov, 2012; Yankov and Drumeva, 2014).

The physical properties of the seed bed are especially important also for the emergence, the optimal density and the distribution of the plants in the crop, the growth of the plants and the yield obtained from them (Ozpinar and Cay, 2006). In order to emerge fast and uniformly, the sunflower seeds should be placed in a well settled soil, and the upper soil layer should be loose. Thus, a supply of moisture from below and of air from above is ensured, and the penetration of the sprouts to the soil surface is facilitated. It is also necessary to provide good contact of the seeds with soil (Radford and Nielsen, 1985). Investigating the effect of different ways for soil tillage on the development and productivity of sunflower, Sessiz et al. (2008) reported higher percent of emerging plants under conventional tillage, followed by direct sowing, minimal tillage and chisel-ploughing. In an 11-year experiment, Dam et al. (2005) also determined a slower rate of emergence of maize in a variant with direct sowing.

Sessiz et al. (2008) did not find a statistically significant difference for the effect of the different ways of soil tillage on the height of the sunflower plants, the head diameter and the stem. The greatest height, head diameter and stem were measured in the areas with chisel-plough, followed by those with conventional tillage, disking and direct sowing. The different intensity of the chisel plough also influenced these biometrical parameters. Guirguis et al. (2008) determined the highest stem height

and head diameter in the variant involving chisel-plough three passes followed by disk-harrow one pass. Lower values of these parameters under direct sowing were also reported by Yalçın et al. (2008).

In spite of the small variations between the conventional and no-tillage, the differences were significant.

The aim of this investigation was to follow the effects of different ways of main tillage methods of the slightly leached chernozem soils on the vertical distribution of the sunflower seeds in the soil layer and the development of the plants.

2. Material and Methods

2.1. Soil and climatic conditions

The investigation was carried out on the territory of General Toshevo during 2014 – 2016. The soils in the region where South Dobrudzha is located, are represented by slightly leached chernozems (Yolevsky et al., 1959). According to their mechanical composition, they are sandy-loamy, with favorable water and air regime. Their bulk density characterizes them as soils with loose structure, without compact horizons down the entire profile. Their soil reaction is neutral. They have a comparatively powerful humic horizon (60-80 cm), with a mean content of humus in the plough layer of 3.7 %. The reserves of P₂O₅ are from low to moderate, and the reserves of K₂O – from moderate to good.

The mean annual temperature in the region is 10.6 °C. January is the coldest month (–0.3 °C), and July is the warmest (21.3 °C). The mean annual precipitation sum is 518.3 mm. The maximum of rainfalls is during May – June, and the minimum – during August – September.

The meteorological data for the years of the investigation showed that it was carried out under varied climatic conditions (Figure 1). The mean diurnal air temperature in April of 2014 and 2016, when the sunflower plants emerged and started their development, was higher than normal and reached 12 °C. The air temperature during this period of 2015 was close to the climatic norm (10.1 °C). In July, mass flowering of sunflower occurred. It was warmer in 2015 and 2016 in comparison to the long-term mean diurnal air temperature for this month. In 2014, the air temperature for this period was close to the norm.

In April of 2015, the sum of the rainfalls was close to the climatic norm. During the other two years of the investigation, the rainfalls were lower. The large amount of rainfalls in June of 2014 is noteworthy. It was with 210.0 % above the mean long-term value. In July, the month next in importance for the vegetative growth of sunflower, only year 2014 was close to the climatic norm by amount of the rainfalls. The other two years from the investigation were drier.

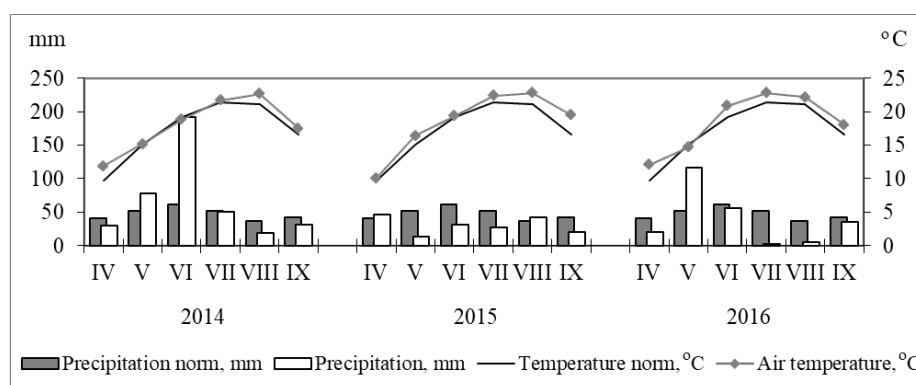


Figure 1. Air temperature and precipitation during the vegetation period from May to September of 2014, 2015 and 2016.

2.2. Field experiment

Four types of main soil tillage methods for sunflower were investigated as ploughing (conventional tillage) at 24-26 cm (CT), chisel ploughing at 24-26 cm (CP), disking with disk harrow

at 10-12 cm (DD) and no-tillage (NT). The experiment was designed according to the long plot method. Each variant was tested on plot being 576 m², divided in eight equal replications with size of 72 m² (12 x 6 m).

The main types of soil tillage for sunflower were performed in August. The pre-sowing tillage of the areas cultivated with ploughing and disking included two times processing with cultivator and harrow. In the other two variants such pre-sowing treatments were not applied. In the variants with chisel-ploughing and no-tillage, a total herbicide was applied for control of weeds. At high infestation with weeds, double spraying with the herbicide was done – one in autumn, and the other one in spring, prior to sowing of sunflower. Only a single pre-sowing spraying with the herbicide was applied at low density of weeds.

Sunflower seeds were sown by use of a pneumatic planting machine setted up for sowing density of 65 000 plants/ha, 0.7 m spaced rows and sowing depth of 6 cm. During the vegetative growth of the crop, the weeds in all tested variants were controlled by using the appropriate herbicide. Mechanical inter-row cultivation of the soil in the studied variants was not done.

2.3. Distribution of the seeds in the soil layer

To determine the depth of seed placement, the etiolated part of the ladder of plants removed from the soil was measured. The measurements were carried out after the end of germination and covered randomly 20 plants from each replication.

2.4. Dynamics of plant emergence

The dynamics of plant emergence was counted daily from two rows with 6 m length for each replication. Plant counts were made in the marked rows from the first emergence until a constant number of germinated plants from each replication of the variants was reached. From the number of total emerged seeds and the number of planted seeds, the percentage of emerged seedling was calculated.

2.5. Biometrical parameters of the plants

The plant height and the stem diameter at budding and full flowering stages were estimated on the plants of each replication from two rows of 6 m, marked at sowing. 20 plants per row were measured. On the same plants the head diameter was measured at stage full flowering.

2.6. Statistical analysis

All data were analyzed using the analysis of variance (ANOVA) procedure to test the effects of different main soil tillage methods on the measured parameters – distribution of the seeds in the soil layer, dynamics of plant emergence and biometrical parameters of the plants. Mean comparisons were performed using the Fisher's LSD (the least significant difference) test at $P < 0.05$, 0.01 and 0.001. After performing the analysis of variance, we compared the different main soil tillage methods, using the Duncan's Multiple Range Test (DMRT). SPSS (2007) was used for statistical data processing.

3. Results and Discussion

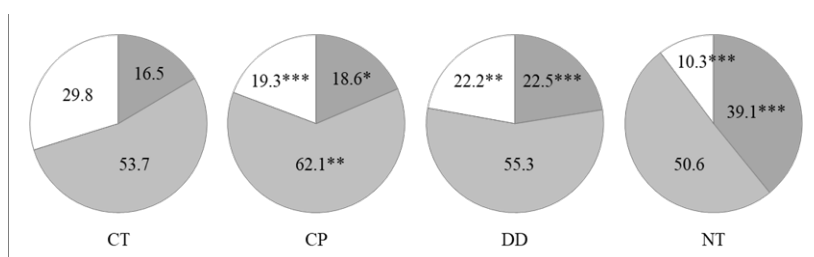
3.1. Distribution of the seeds in the soil layer

The placement of the seeds at a suitable depth and their even distribution in the soil layer depends on the quality of the soil tillage that has been performed. It had to be uniform down the soil profile, to ensure favorable percentage distribution of the agronomically valuable structural units with a size from 10 to 0.25 mm in the zone of seed placement, to incorporate at the necessary depth the previous crop plant residues.

Depth of sowing has been an important factor in ensuring the uniform germination of plants and the desired density of crops. If the seeds were sown deeply and the soil was cold, germination

would be prolonged and would affect the vitality of young plants. Conversely, if the seeds have been laid shallowly, when the surface soil layer dries, their germination has been delayed and even the already germinated seeds would dry out. Therefore, the depth of sowing and its uniformity has to be approached precisely. The omissions or bad quality of this agro-technical practice would be irreparable and difficult to compensate.

The data on the vertical distribution of the sunflower seeds in the soil cultivated in different ways showed that at the optimal depth (5-7 cm), most seeds were placed in the area with chisel-ploughing, followed by that with disking and ploughing (Figure 2). Lowest percent of seeds in this soil layer were determined in the variant with direct sowing. The differences, as compared to ploughing, were statistically significant at P=0.01 for chisel-plough, and statistically not significant for disking and no-tillage. With the reduction of the soil tillage, the amount of seeds placed at a depth lower than the favorable (<5-7 cm) also increased. The differences, as compared to ploughing, were significant at P=0.05 for tillage without turning of the soil layer, and for minimal tillage and no-tillage – at P=0.001. The highest percent of seeds were registered in the variant with ploughing in the soil layer under the optimal for sowing (>5-7 cm). Such a tendency in this soil type has been determined in studies on other crops as well (Yankov, 2012; Yankov and Drumeva, 2014). This variant was followed by minimal tillage, tillage without turning of the soil layer and no-tillage. The differences, as compared to ploughing, were statistically significant at P=0.01 for disking, and for chisel-plough and direct sowing – at P=0.001.



CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage

Depth, cm	LSD _{0.05}	LSD _{0.01}	LSD _{0.001}
<5-7	2.072	3.139	5.047
5-7	3.965	6.006	9.655
>5-7	3.190	4.833	7.769

*, **, *** – Significance of effects and variations at P levels 0.05, 0.01 and 0.001, respectively

Figure 2. Distribution of sunflower seeds along depths according to the type of soil tillage (%).

The applied analysis of the variances showed that the performed types of main soil tillage methods have a significant effect on the vertical distribution of the sunflower seeds down the soil profile (Table 1). In the different layers the influence of this factor on the studied parameter was significant at P=0.001.

Table 1. Variance analysis of the investigated index

Index	Depth, cm	df	Mean Square	F	Sig.
Soil tillage	<5-7	3	315.547	291.499	.000
	5-7		70.827	23.472	.000
	>5-7		194.820	71.823	.000

To follow the effect of the tested factor on this agronomy parameter, Duncan test was applied (Table 2). At a depth greater than the recommendable for sowing of sunflower (<5-7 cm), based on the percent distribution of the seeds in the soil layers, a similarity between the separate types of tillage was not found. Each of them fell within a separate group.

At the optimal depth (5-7 cm), three groups were formed. Direct sowing fell within the most unfavorable one (a), which was with the lowest amount of seeds placed in this soil layer. The test distributed conventional tillage in this group as well (a), but also classified it to the next better one (b),

which, too, included the variant with disking. Chisel plough was in an independent group (c), and in this area the highest percent of seeds at the recommended depth were determined.

Three groups were formed under the soil layer favorable for sowing (>5-7 cm). The first of them (a) included direct sowing, which was with the lowest percent of seeds placed in this horizon. In the next group (b), the test placed the areas with disking and chisel-plough, which occupied an intermediate position with regard to the values of the investigated parameter. The third group (c) included conventional tillage with the highest percent of seeds below the optimal depth.

Table 2. Statistical grouping of soil tillage in the respective depths of the soil layer based on the percent of vertical distribution of sunflower seeds (Duncan)

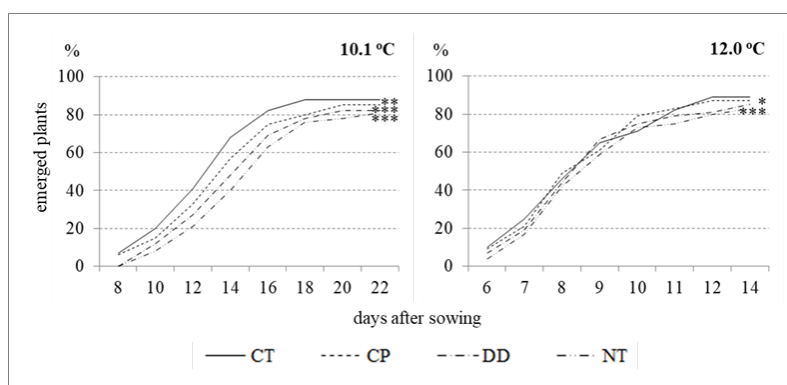
Soil tillage	Depth, cm		
	<5-7 cm	5-7 cm	>5-7 cm
	Groups (Values)		
CT	a (16.5)	a, b (53.7)	c (29.8)
CP	b (18.6)	c (62.1)	b (19.3)
DD	c (22.5)	b (55.3)	b (22.2)
NT	d (39.1)	a (50.6)	a (10.3)

CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage.

Probably the deviations from the optimal depth of seed placement in the variants with ploughing and disking were due to the variation of the depth of the performed pre-sowing cultivation and the looseness of the soil, which increased the percent of seeds sown deeper. Exclusion the tillage of the surface soil layer in the areas with chisel ploughing and no-tillage helped to reduce the microuneven of the terrain. The higher bulk density of the slightly leached chernozems in the areas with direct sowing (Yankov, 2007) conditioned the greater amount of the seeds placed at a shallower depth in the soil profile. The low degree of loosening on soil in variant with chisel plough led to a reduction and exclusion of the destructive effect of intensive tillage on the bulk density and aggregate stability (Abu-Hamdeh, 2004; Barzegar et al., 2003; Yankov, 2007; Yankov, 2009a; Nunes et al., 2020), which benefited a more equal sowing regime.

3.2. Dynamics of plant emergence

The dynamics of the emergence of the plants under the studied types of soil tillage was followed at different mean diurnal air temperatures during the period from sowing to the end of emergence (Figure 3).



CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage

°C	LSD 0.05	LSD 0.01	LSD 0.001	°C	LSD 0.05	LSD 0.01	LSD 0.001
10.1	3.339	4.545	6.131	12.0	2.435	3.315	4.472

*, **, *** – Significance of effects and variations at P levels 0.05, 0.01 and 0.001, respectively

Figure 3. Dynamics of sunflower emergence after different soil tillage and day/night air temperature (%).

At mean diurnal air temperature close to the norm (10.1 °C), the emergence of sunflower in the areas with disking and direct sowing started with 1-2 days later. The replacement of conventional ploughing with minimal and no-tillage also decreased the dynamics of emergence, which was especially well expressed at the initial periods. Later, the differences in the rate of emergence between the variants decreased. Under chisel-plough and disking, the emergence of sunflower was completed within two days, and under direct sowing – with four days later than under ploughing. At the end of this phenophase, regardless of its later and slower rate of occurrence, the percent of emerging plants was approximately the same under the different ways for tillage of soil. The differences in the occurrence of this phase under alternative types of soil tillage, as compared to ploughing, were significant at P=0.01 for chisel-plough, and for disking and direct sowing – at P=0.001.

Under the conditions of a higher mean diurnal air temperature (12.0 °C), some delay was observed only at the beginning of the sunflower emergence depending on the type of the used soil tillage. On the 7th day after sowing, the highest number of emerging plants were registered under ploughing. With the reduction of the soil tillage types, their number decreased. After the 9th day, a relative uniformity in the percent of emerging plants was observed under the investigated types of soil tillage methods. Under these more favorable temperature conditions, there was no significant difference between ploughing and chisel plough during the occurrence of this phenophase. A significant difference noted in the other two variants. In the areas with disking, it was significant at P=0.05, and in the areas with direct sowing – at P=0.001.

The applied analysis of variances showed that the factors “soil tillage”, “mean diurnal air temperature” and the combination between them had a statistically significant effect on the dynamics of the emergence of the sunflower plants (Table 3). The effect of the factors on the investigated trait was significant at P=0.001.

Table 3. Analysis of variance of soil tillage (A) x mean diurnal temperature (B) in dynamic of sunflower emergency

Indices	df	Mean Square	F	Sig.
Soil tillage (A)	3	320.068	46.834	.000
Mean diurnal temperature (B)	1	508.805	74.450	.000
A x B	3	86.602	12.672	.000

The Duncan test, with regard to the effect of the investigated types of tillage on the dynamics of the plant emergence, placed at the beginning of this phenophase ploughing and chisel-plough in the same group (b), (Table 4). To the next group with a lower number of emerging plan (a) belonged disking and direct sowing.

In the middle of the phase, the test formed three groups. The most unfavorable one (a) included direct sowing, which was with the lowest number of registered plants. The areas with disking and chisel plough fell within the second, better group (b). Those with applied ploughing were classified separately (c), and they were with the highest percent of emerging plants.

Table 4. Statistical grouping of soil tillage based on the dynamics of sunflower emergence (Duncan)

Soil tillage	Dynamics of sunflower emergence (%)		
	at the beginning of the phenophase	in the middle of the phenophase	at the end of the phenophase
	Groups (Values)		
CT	b (8.50)	c (66.50)	b (88.50)
CP	b (7.50)	b (59.00)	a, b (86.00)
DD	a (3.55)	b (57.50)	a (83.50)
NT	a (2.05)	a (49.50)	a (82.00)

CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage.

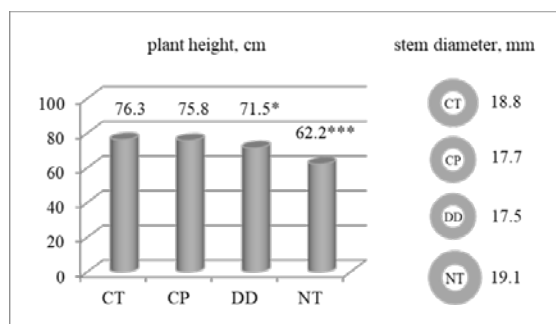
At the end of the emergence phenophase, again two groups were formed. One of them (a) included disking and direct sowing, in which a smaller end number of sunflower plants were determined. The test placed chisel-plough in this group as well, but at the same time classified it in the

next better group (b), where the variant with conventional tillage was placed. This allowed the conclusion that under favorable temperature and water regime, chisel plough may be recommended as an alternative to conventional ploughing with regard to the studied trait. The lower percent of emerging plants and the slower occurrence of this phenophase in the tested ways for alternative soil tillage, as compared to the conventional one, were probably due to the less favorable thermal conditions and aeration of the surface soil layer in these areas (Yankov, 2007; Yankov, 2009b). Sessiz et al. (2008) also reported a higher percent of emerging plants under ploughing.

3.3. Biometrical parameters of the plants

The effect of the studied ways for soil tillage on the vegetative development of sunflower was followed by measuring the plant height and the stem diameter at stages budding and full flowering. At phenophase full flowering, the head diameter was measured since it was one of the parameters determining the yield from this crop.

The height of the sunflower measured at budding stage was highest under conventional tillage, followed by chisel plough (Figure 4). With the reduction of the tilths, the plant height decreased statistically significant under disking (P=0.05) and direct sowing (P=0.001). During these phenophases, in the variant with no-tillage, the highest stem diameter was read. The differences in the values of this parameter between the separate ways of soil tillage were not significant.



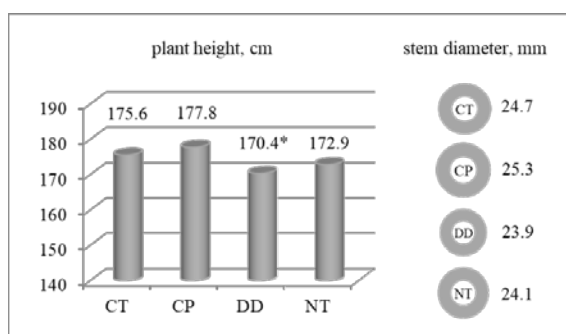
CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage

Indices	LSD 0.05	LSD 0.01	LSD 0.001
plant height, cm	3.450	5.225	8.340
stem diameter, mm	2.234	3.899	5.874

*, **, *** – Significance of effects and variations at P levels 0.05, 0.01 and 0.001, respectively

Figure 4. Effect of soil tillage on plant height and stem diameter at budding stages of sunflower.

At phenophase full flowering, in the variant with chisel plough, the greatest height of sunflower was registered. Next came ploughing and direct sowing. Lowest were the plants in the areas with disking, statistically significant at P=0.05 (Figure 5). The lowest stem diameter was also measured in this variant. The statistical differences in the values of this parameter during this phenophase were not significant between the separate ways of soil tillage.



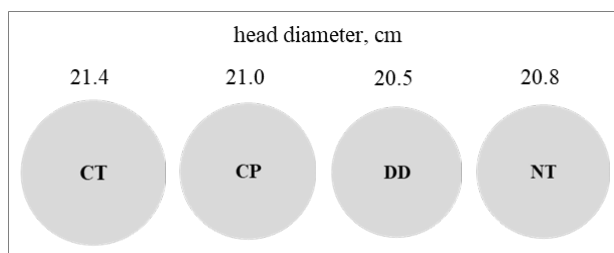
CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage

Indices	LSD _{0.05}	LSD _{0.01}	LSD _{0.001}
plant height, cm	5.082	7.698	12.375
stem diameter, mm	2.066	3.129	5.031

*, **, *** – Significance of effects and variations at P levels 0.05, 0.01 and 0.001, respectively

Figure 5. Effect of soil tillage on stem height and diameter at blooming stages of sunflower plant development.

The differences in the head diameter between the applied types of soil tillage at stage full flowering were also not significant (Figure 6).



CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage

LSD _{0.05}	LSD _{0.01}	LSD _{0.001}
3.299	4.997	8.033

*, **, *** – Significance of effects and variations at P levels 0.05, 0.01 and 0.001, respectively

Figure 6. Effect of soil tillage on head diameter at blooming stages of sunflower.

The applied analyses of variances showed that the factor “soil tillage” had a significant effect on sunflower height (P=0.001), (Table 5). It did not have a significant effect on the diameter of stems and heads. The factor “vegetative stage of development” influenced the height of the plants and the diameter of their stems significantly at P=0.001. The combination of the two factors – soil tillage and vegetative phase of development had a statistically significant effect only on the height of plants (P=0.05).

Table 5. Analysis of variance of soil tillage (A) x vegetative phase of development (B) in sunflower for plant height, stem diameter and head diameter

Indices	df	Mean Square	F	Sig.
plant height				
Soil tillage (A)	3	113.794	20.349	.000
Vegetative phase of development (B)	1	62689.482	12.121	.000
A * B	3	44.661	7.986	.002
stem diameter				
Soil tillage (A)	3	1.324	.728	.550
Vegetative phase of development (B)	1	232.504	127.925	.000
A * B	3	1.764	.970	.431
head diameter				
Soil tillage (A)	3	.427	.208	.888

The Duncan test, regarding the effect of the investigated ways for soil tillage on the vegetative development of plants, placed the studied variants in different groups only by the parameter plant height (Table 6). At phenophase budding, three groups were formed. The most favorable of them (c) included ploughing and chisel-plough. Disking was referred to the next group with shorter plants (b). Direct sowing belonged to the least favorable group (a) and in this group the sunflower plants were the shortest.

At phenophase flowering, the differences decreased and two groups were formed. One of them (b) included chisel-plough, ploughing and no-tillage, in which the height of the plants was approximately the same. Other authors also reported greater plant height of sunflower in the variant with chisel-plough (Guirguis et al., 2008; Sessiz et al., 2008). The other two types of tillage were placed by the test also in the next less favorable group (a), to which disking was referred separately. In the areas of this variant, the plants were shortest during this phase. Opposite were the findings of Sessiz et al. (2008), who determined greater plant height of sunflower under disking in comparison to direct sowing.

For the other two parameters, diameter of stems and heads, the test placed all investigated types of tillage in one group (a). Sessiz et al. (2008) also did not find statistical significance concerning the effect of the different types of soil tillage on these parameters. Opposite were the results of Yalçın et al. (2008) according to them the differences were significant in spite of the small variations in the values.

Table 6. Statistical grouping of soil tillage based on the vegetative development of sunflower (Duncan)

Soil tillage	Groups (Values)	
	budding stages	blooming stages
	plant height	
CT	c (76.3)	a, b (175.6)
CP	c (75.8)	b (177.8)
DD	b (71.5)	a (170.4)
NT	a (62.2)	a, b (172.9)
stem diameter		
CT	a (18.8)	a (24.7)
CP	a (17.7)	a (25.3)
DD	a (17.5)	a (23.9)
NT	a (19.1)	a (24.1)
head diameter		
CT	a (21.4)	
CP	a (21.0)	
DD	a (20.5)	
NT	a (20.8)	

CT – ploughing at 24-26 cm; CP – chisel ploughing at 24-26 cm; DD – disking at 10-12 cm; NT – no-tillage.

In the investigated alternative ways of main soil tillage, the lower height of the plants at phenophase budding was probably due to the lower soil temperatures at the end of the spring and the beginning of summer, as well as to the higher bulk density of the soil layer. The complex effect of these factors suppressed the upward growth of sunflower. At phenophase flowering, the lower plant height and stem diameter in the variant with disking were probably due to the weaker roots of the plants because of the higher bulk density of the soil layer to the depth to which this type of tillage was performed (Yankov, 2007; Osman et al., 2011; Gbadamosi, 2013; Nargish et al., 2014). A similar tendency in the same soil type and way of soil tillage has been established in another spring crop – grain maize (Yankov and Drumeva, 2017).

4. Conclusion

The highest percent of sunflower seeds in the zone of the soil layer optimal for sowing (5-7 cm) were placed when cultivation with chisel-plough was applied. Under the other types of soil tillage, their amount decreased. In the variants with disking and direct sowing, the percent of the seeds placed

at a depth lower than the favorable one (<5-7 cm) increased. Under the layer optimal for sowing (>5-7 cm), the highest amount of seeds were determined in the ploughed areas.

When sowing was performed at a mean diurnal air temperature close to the norm, the emergence of the plants in the variants with chisel plough, disking and no-tillage occurred significantly slower in comparison to ploughing. In these areas the phenophase was with 2 to 4 days longer. At higher mean diurnal air temperature, only at the beginning of sunflower emergence some delay was observed depending on the type of the applied soil tillage. Under these conditions, a significant difference in the occurrence of the phenophases was determined in the variants with disking and direct sowing, as compared to the areas with ploughing.

With the minimizing and exclusion of the soil tillage, the growth of the sunflower plants was significantly retarded at the initial stages of their development. At phenophase flowering, the plant height and the stem diameter were lowest in the areas cultivated with disking. The investigated types of soil tillage did not have a significant effect on the diameter of the sunflower heads.

References

- Abu-Hamdeh, & N.H. (2004). *The effect of tillage treatments on soil water holding capacity and on soil physical properties* Paper presented at the ISCO 2004 – 13th International Soil Conservation Organisation Conference, Brisbane.
- Barzegar, A., Asoodar, M., Khadish, A., Hashemi, A. & Herbert, S. (2003). Soil physical characteristics and chickpea yield responses to tillage treatments. *Soil and Tillage Research*, 71 (1), 49-57.
- Dam, R., Mehdi, B., Burgess, M., Madramootoo, C., Mehuys, G. & Callum, I. (2005). Soil bulk density and crop yield under eleven consecutive years of corn with different tillage and residue practices in a sandy loam soil in central Canada. *Soil and Tillage Research*, 84 (1), 41-53.
- Delchev, G. (2013). Efficacy and selectivity of vegetation-applied herbicides and their mixtures with growth stimulator Amalgerol premium at oil-bearing sunflower grown by conventional, Clearfield and ExpressSun technologies. *Agricultural Science and Technology*, 5 (2), 200-205.
- Delibaltova, V. & Dallev, M. (2017). Comparative testing of oil sunflower hybrids in the region of north – east Bulgaria. *Scientific Papers Series A Agronomy LX*, 225-228.
- Drumeva, M. & Yankov, P. (2018). Effect of *Sclerotinia sclerotiorum* on sunflower seeds quality. *Helia*, 41 (68), 45-55.
- Gbadamosi, J. (2013). Impact of different tillage practices on soil moisture content, soil bulk density and soil penetration resistance in Oyo metropolis, Oyo state, Nigeria. *Transnational Journal of Science and Technology September*, 3 (9), 50-57.
- Guérifa, J., Richard, G., Dürr, C., Machet, J.M., Recous, S. & Roger-Estrade, J. (2001). A review of tillage effects on crop residue management, seedbed conditions and seedling establishment. *Soil and Tillage Research*, 61 (1-2), 13-32.
- Guirguis, A., Aboukarima, W., Marazky, M. & Egela, M. (2008). Sunflower crop response to furrow irrigation inflow rate and tillage system. *Misr J. Ag. Eng.*, 25 (1), 38-57.
- Klochkov, B., Karaivanov, A., Dimov, A., Simeonov, B., Kovachev, V., Davodov, D., Ivanov, D., Gospodinov, G., Sabev, G., Dimitrov, I., Kabakchiev, I., Kalinov, I., Lukov, I., Moskov, G., Panayotov, I., Shtereva, L., Krastev, M., Yolevsky, M., Petkova, M., Donchev, N., Ivanov, P., Palazov, P., Shterev, P., Zahariev, T., Kontev, H., Filipov, H. & Georgiev, Y. (1988). *Technologies for Production of Grain Crops*. Zemizdat, Sofia. (Bg).
- Licht, M. & Al-Kaisi, M. (2005). Strip-tillage effect on seedbed soil temperature and other soil physical properties. *Soil and Tillage Research*, 80 (1-2), 233-249.
- Nargish, P., Parvage, M. & Etana, A. (2014). Effect of mouldboard ploughing and shallow tillage on sub-soil physical properties and crop performance. *Soil Science and Plant Nutrition*, 60 (1), 38-44.
- Nunes, M., Karlen, D. & Moorman, T. (2020). Tillage Intensity Effects on Soil Structure Indicators – A US Meta-Analysis. *Sustainability* 2020, 12 (5), 2071.
- Osman, A., Xia, L. & Dongxing, Z. (2011). Effects of tilt angle of disk plough on some soil physical properties, work rate and wheel slippage under light clay soil. *Int J Agric & Biol Eng*, 4 (2), 29-35.

- Ozpinar, S. & Cay, A. (2006). Effect of different tillage systems on quality and crop productivity of a clay-loam soil in semi-arid north-western Turkey. *Soil and Tillage Research*, 92, 69-78.
- Radford, B. & Nielsen, R. (1985). Comparison of a press wheel, seed soaking and water injection as aids to sorghum and sunflower establishment in Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 25 (3), 656-664.
- Sessiz, A., Sogut, T., Alp, A. & Esgici, R. (2008). Tillage effects on sunflower (*Helianthus annuus*, L.) emergence, yield, quality, and fuel consumption in double cropping system. *Journal of Central European Agriculture*, 9 (4), 697-710.
- Sin, G., Botea, M. & Drăgan, L. (2008). *Some aspects of sunflower crop management in Romania* Paper presented at the 17th International Sunflower Conference, Córdoba, Spain.
- SPSS. (2007). IBM SPSS Statistics 16.0 for Windows. Armonk, NY.
- Yalçın, H., Çakır, E., Aykas, E., Önal, I., Gülsoylu, E., Okur, B., Delibacak, S., Ongun, A., Nemli, Y. & Türkseven, S. (2008). Reduced tillage and direct seeding applications on second crop maize and sunflower. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi (Journal of Agricultural Machinery Science)*, 4 (2), 157-164.
- Yanchev, I. & Kirchev, H. (2007). Influence of some herbicides over the quantitative indexes of varieties and hybrids of sunflower. *Field Crops Studies*, IV (1), 169-173. (Bg).
- Yankov, P. (2007). Change of bulk density of the slightly leached chernozem in Dobroudja region under the effect of long-term use of some soil tillage systems. *Field Crops Studies*, IV (1), 87-94. (Bg).
- Yankov, P. (2009a). Changes in the composition and water sustainability of soil units under the effect of some soil tillage systems. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 15 (5), 393-399.
- Yankov, P. (2009b). Variation in the temperature of Haplic Chernozem (Slightly Leached Chernozem Soils) in Dobroudja region under the effect of some soil tillage systems. *Soil science, Agrochemistry and Ecology*, XLIII (4), 41-46. (Bg).
- Yankov, P. (2012). Vertical distribution of wheat seeds in the soil layer depending on the type of pre-sowing tillage. *Agricultural science and technology*, 4 (1), 33-35.
- Yankov, P. & Drumeva, M. (2014). Effect of different types of main soil tillage on the vertical distribution of maize seeds in the soil layer and on the development of the plants. *Agricultural science and technology*, 6 (1), 56-59.
- Yankov, P. & Drumeva, M. (2017). Effect of the soil tillage system on the root development of maize. *Romanian agricultural research*, 34, 113-119.
- Yolevsky, M., Macheva, K. & Petkov, P. (1959). The soils in the trial field of Dobrudzha Agricultural research institute and the trial fields in Karvuna, Tolbukhin district, and Suvorovo, Varna district. *Research papers of DSNI, III (1-2)*, 5-62. (Bg).
- Zugec, I., Stipesevic, B. & Kelava, I. (2000). *Rational soil tillage for winter cereals (winter wheat – *Triticum aestivum* L. and spring barley – *Hordeum vulgare* L.) in Eastern Croatia* Paper presented at the 15th ISTRO Conference, Fort Worth, TX, USA.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Türkiye’de Tarımsal Sabit Sermaye Yatırımları ve Tarımsal Büyüme Arasındaki İlişki

Nazife Özge BEŞER^{*1}, Esra KADANALI²

¹Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, İktisat Bölümü, Ağrı, Türkiye

²Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, İşletme Bölümü, Ağrı, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-6738-3638> ²<https://orcid.org/0000-0001-6899-4935>

*Sorumlu yazar e-posta: nokilic@agri.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 13.10.2020
Kabul: 11.04.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.809862

Anahtar kelimeler

Tarımsal büyüme,
Tarımsal kamu sabit sermaye yatırımları,
Tarımsal özel sabit sermaye yatırımları,
VAR analizi.

Öz: Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de tarım sektörüne yapılan tarımsal sabit sermaye yatırımlarının tarımsal büyüme üzerindeki etkisini incelemektir. Bu amaçla çalışmada tarımsal büyüme, tarımsal özel sabit sermaye, tarımsal kamu sabit sermaye yatırımları ve tarımsal istihdam değişkenleri 1995-2018 yılları arası yıllık veriler kullanılarak VAR Analizi ve Granger Nedensellik Testi yardımıyla incelenmiştir. VAR Modelinden elde edilen varyans ayrıştırması ve etki tepki fonksiyonlarının sonuçlarına göre değişkenlerin etkileşim içinde olduğu ve tarımsal büyümenin sabit sermaye yatırımları ve istihdam değişkenlerinden etkilendiği tespit edilmiştir. Granger nedensellik analizi sonuçları ise tarımsal büyüme ile istihdam arasında çift yönlü ve kamu sabit sermaye yatırımlarından da tarımsal büyümeye tek yönlü nedensellik olduğu yönündedir.

The Relationship Between Agricultural Fixed Capital Investment and Agricultural Growth in Turkey

Article Info

Received: 13.10.2020
Accepted: 11.04.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.809862

Keywords

Agricultural growth,
Agricultural private fixed capital investments,
Agricultural public fixed capital investments,
VAR analysis.

Abstract: The purpose of this study is to examine the effects of fixed capital investments on agricultural growth in Turkey. For this purpose, in the study, agricultural growth, agricultural private fixed capital, agricultural public fixed capital investments and agricultural employment variables were analysed with the help of VAR Analysis and Granger Causality Test using annual data between 1995-2018. According to the results of variance decomposition and impact response functions obtained from the VAR Model, variables were interacted and agricultural growth was affected by fixed capital investments and employment variables. Granger causality analysis is that there is a two-way causality between agricultural growth and employment and one-way causality from public fixed capital investments to agricultural growth.

1. Giriş

Tarım sektöründe büyüme sektöre yapılacak yatırımların devamlılığı ve artırılması ile mümkün olmakla birlikte, bu yatırımlar sayesinde sermaye birikiminin de artması sağlanmaktadır (Olgun ve ark., 2018). Tarımsal üretimin temel bir bileşeni olan sermaye, tarımsal büyüme ve kalkınma sürecinin de anahtarı sayılmaktadır (Butzer ve ark., 2010). Yatırım ise fiziksel sermaye

stokundaki, yani bir yıl veya daha uzun kullanım ömrüne sahip fiziksel girdilerdeki (arazi, ekipman, makine, depolama tesisleri, hayvancılık) değişiklik olarak tanımlanabilmektedir (Zepeda, 2001). Sabit sermaye yatırımları, mal ve hizmet üretim kapasitesinin temel göstergelerinden biridir (Bayraktutan ve Arslan, 2008). Sabit sermaye diğer sektörlerde olduğu gibi tarım sektöründe de yatırımlara dönüşmekte ve yatırıma dönüşen sermayenin ise tarımsal ve ekonomik büyümeye katkı sağlayacağı ifade edilebilmektedir (Terin ve ark., 2013; Teyyare, 2018). Tarım sektöründe üretim genel olarak emeğe dayalı olarak gerçekleştiğinden, emeğin verimli olması için yatırımlara önem verilmesi gerekmektedir (Cengiz ve Baydur, 2010). Yapılan araştırmaların çoğu sermayenin tarımsal geliri ve işgücü verimliliğini artırma konusuna vurgu yapmaktadır (Bathla, 2012).

Tarım sektörü, hem insan beslenmesindeki önemi hem de ülke ekonomisine sağladığı katkıdan dolayı vazgeçilmez bir sektördür. Ülke ekonomisine sağladığı katkısı, sanayi için hammadde kaynağı olması ve istihdama katkı sağlaması şeklinde ifade etmek mümkündür (Doğan ve Tümer İkikat, 2019). Türkiye ekonomisi içinde tarım sektörünün Gayrisafi Yurt İçi Hasıladaki payı göreceli olarak azalsa da etkinliğini korumaktadır. Tarımın önemli bir ekonomik sektör olduğu gelişmekte olan ülkelerde tarımsal yatırım planlarının, sadece tarım ve gıda güvenliği üzerindeki etkilerine değil, aynı zamanda makroekonomik faktörlere (ekonomik büyüme, istihdam yaratma ve yoksulluğun azaltılması) katkılarının da dikkate alınması beklenmektedir (Benfica ve ark., 2019). Dolayısıyla tarımsal yatırımlar üretimi, geliri ve istihdamı artırarak tarımsal kalkınmayı teşvik eden önemli unsurlardır. Üretim ve gelir artışındaki etkisi ile birlikte tarımsal yatırımlar, ürün maliyetinin azalmasına yardımcı olarak, arazi verimliliğinde artış sağlaması ile yine ekonomik büyümede olumlu yönde etki gösterebilmektedir (Li ve Wang, 2011). Aynı zamanda sürdürülebilir tarımsal büyüme konusu, kalkınma planlarının odak konularından birisi olup, tarımsal yatırımlara önem verildiği anlaşılmaktadır. Çünkü sulamaya, kırsal altyapıya, kurumlara, araştırmalara ve yayım faaliyetlerine yapılan yatırımlar, tarım sektöründe büyümeye önemli bir katkı sağlamaktadır (Roy ve Pal, 2002). On Birinci Kalkınma Plan Dönemi için (2019-2023) Toplam Kamu Sabit Sermaye Yatırımlarında Hedefler başlığında 2018 fiyatlarıyla, tarım sektöründe hedef 46 032 milyon TL ve payı % 6.1 olarak belirtilmektedir.

Ekonomik büyüme sürecinde tarım sektörünün önemi dikkate alındığında, fiziksel sermaye ve üretim seviyesi tahminleri ve bunlar arasındaki ilişkilerin belirlenmesi önem arz etmektedir (Donckt ve Chan, 2019). Çünkü tarım sektöründeki verimlilik artışı ekonominin diğer sektörlerine kaynak sağlamaktadır. Kırsal nüfusun geçim kaynağının önemli oranda tarım sektörüne dayanması nedeniyle verimlilik ve gelir artışları, doğrudan eldeki kaynakların üretkenliği ile ilişkilidir. Eldeki kaynakların üretkenliğinin artışında sabit sermaye yatırımlar rol almakta sabit sermaye yatırımlar ise bireysel haneler, özel sektör ve kamu sektörü tarafından yapılmaktadır. Bireysel haneler ve özel sektör yatırımları; özel yatırımları, kamu sektörü tarafından yapılan yatırımlar ise kamu yatırımlarını oluşturmaktadır.

Bu doğrultuda tarımsal büyümenin ekonomik büyümeye etkisi düşünüldüğünde, sektöre yapılan sabit sermaye yatırımlarla arasındaki ilişkinin ortaya koyulması gerekmektedir. Konuyla ilgili literatür incelendiğinde sabit sermaye yatırımlarının tarımsal büyüme üzerinde olumlu etkisinin belirlendiği çalışmalara rastlanmaktadır (Roy ve Pal, 2002; Fan ve ark., 2008; Terin ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2014; Singh ve ark., 2015; Benfica ve ark., 2019). Sivagnanam ve Murugan (2016), kamu yatırımının, tarım sektörünü teşvik etmek için önemli faktör olduğunu belirtmiş, tarıma yapılan yatırımların büyüme üzerine olumlu etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca tarımda kamu ve özel yatırım arasında uzun dönemli bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu araştırmanın temel amacı da Türkiye tarım sektöründe hem kamu hem de özel sektör tarafından gerçekleştirilen tarımsal sabit sermaye yatırımları ile tarımsal Gayri Safi Yurtiçi Hâsıla arasındaki nedensellik ilişkilerinin ortaya konulmasıdır. Ayrıca çalışmada açıklayıcı değişken olarak istihdam değişkeni de analize dâhil edilmiştir. Bunun sebebi sabit sermaye yatırımlarının büyümeyi etkileyeceği ve tarımsal büyüme ile gelirin artması sonucu istihdamın bundan etkilenebileceği düşüncesidir.

Bu amaçla çalışma üç bölümden oluşmaktadır. Çalışmada giriş bölümünü takiben ikinci bölümde tarım sektöründe sabit sermaye yatırımları ve istihdam ilişkisi açıklanmaktadır. Üçüncü bölümde araştırmada kullanılan materyal ve metot tanıtarak elde edilen bulgular sunulmakta ve sonuç bölümü ile çalışma tamamlanmaktadır.

1.1. Tarım sektöründe sabit sermaye yatırımları ve istihdam

Üretim faaliyetlerinde kullanılan fabrikalar, alet ve makineler, işyerleri ve diğer dayanıklı mallar sabit sermaye yatırımlarını oluşturmaktadırlar (Teyyare, 2018). Sabit sermaye yatırımlarının ekonomik büyümeye katkısı; teknoloji transferi, sermaye birikimi, üretim, istihdam ve gelir artışı, fiyatlar ve ödemeler dengesinde istikrar, ekonomik gelişme ve genel refah seviyesi üzerinde olumlu etkileri ile gerçekleşmektedir (Bayraktutan ve Arslan, 2008).

Türkiye’de tarıma yapılan yatırımlar, kamu sektörü tarafından yapılan sabit sermaye yatırımları ve özel sektör tarafından yapılan sabit sermaye yatırımları şeklinde sınıflandırılmaktadır. Tarım sektörüne yapılan sabit sermaye yatırımlarının ekonomi üzerinde bir takım etkilerinin olduğu bilinmektedir. Tarım sektörüne yapılan yatırımların tarımsal üretimi artırarak Tarımsal Gayrisafi Yurtiçi Hasılda (TGSYH) artış sağlayacağı beklenmektedir (Olgun ve ark., 2018). Çoğunlukla devlet tarafından kırsal yollar, köprüler, sulama, arazi toplulaştırma, hayvan ve bitki sağlığı ile denetim dâhil gıda güvenilirliği altyapısının iyileştirilmesi, araştırma, yayım ve eğitim vb. şeklinde altyapı geliştirmek için yapılan kamu yatırımları, çiftçilerin, daha verimli yatırım yaparak varlık sayısını artırmalarına neden olmaktadır. Özel yatırımlar ise tarım işletmelerinde bina, arazi islahını, makine gibi ayrıca dayanıklı tüketim malları ve ağırlıklı olarak tarım sektöründen elde edilen kârı artırmak için inşa edilen ve yürütülen diğer varlıkları artırmak için yapılan yatırımları içermektedir (Akber ve Paltasingh, 2019).

Türkiye’de bazı yıllar için tarım sektörü GSYİH, tarım sektörünün payı ve bir önceki yıla göre değişim oranları Çizelge 1’de gösterilmektedir. Tarım sektörünün GSYİH içindeki nispi oranı azalsa da tarım sektörü Türkiye ekonomisi için önemini koruyan bir sektördür. 2018 yılında tarım sektörünün GSYİH’deki payı % 5.8’dir. Bununla birlikte tarımsal GSYİH değerlerine ilişkin değişim oranları incelendiğinde 2018 yılında bir önceki yıla göre değişim oranı % 14.5 olarak gerçekleşmiştir. 1998-2018 yıllarını kapsayan dönemde genel olarak bir artış olduğu ancak 2016 yılında bir önceki yıla yakın bir değerde tarımsal GSYİH’nın gerçekleştiği görülmektedir.

Çizelge 1. Tarımsal GSYİH (bin TL) ve İstihdam (bin kişi)

Yıllar	Tarımsal GSYİH	Değişim Oranı (%)	Tarım sektörünün GSYİH içindeki payı (%)	İstihdam	İstihdam değişim oranı
1998	8 957 343	-	12.5	9.388	-
1999	11 229 013	25.4	10.5	7.894	-15.9
2000	17 205 761	53.2	10.1	7.769	-1.6
2001	21 729 848	26.3	8.9	8.089	4.1
2002	36 901 720	69.8	10.3	7.458	-7.8
2003	46 249 933	25.3	9.9	7.165	-3.9
2004	54 365 145	17.5	9.4	5.713	-20.3
2005	62 349 598	14.7	9.3	5.154	-9.8
2006	64 415 593	3.3	8.2	4.907	-4.8
2007	66 197 107	2.8	7.5	4.867	-0.8
2008	74 451 345	12.5	7.5	5.016	3.1
2009	81 234 274	9.1	8.1	5.240	4.5
2010	104 703 635	28.9	9.0	5.683	8.5
2011	114 838 169	9.7	8.2	6.143	8.1
2012	121 692 893	6.0	7.8	6.097	-0.7
2013	121 709 079	0.0	6.7	6.015	-1.3
2014	134 724 745	10.7	6.6	5.470	-9.1
2015	161 447 917	19.8	6.9	5.483	0.2
2016	161 304 618	-0.1	6.2	5.305	-3.2
2017	189 193 521	17.3	6.1	5.464	3.0
2018	216 666 387	14.5	5.8	5.297	-3.1
2019	277494885	28.07	6.4	5.097	-3.8

Kaynak: TÜİK, 2020.

Çizelge 2. Tarım sektörü sabit sermaye yatırımları

Yıllar	Kamu sektörü sabit sermaye yatırımları	Değişim oranı (%)	Özel sektör sabit sermaye yatırımları	Değişim oranı (%)
1998	253881.7	-	469407.3	
1999	401166	58.0	347999.1	-25.9
2000	748974.3	86.7	512342.1	47.2
2001	690000	-7.9	284000	-44.6
2002	674000	-2.3	242000	-14.8
2003	1363.788	-99.8	1067.092	-99.6
2004	1651.125	21.1	2460.211	130.6
2005	1966.265	19.1	2265.137	-7.9
2006	2067.855	5.2	3167.408	39.8
2007	2894.73	39.9	3645.462	15.1
2008	3359.218	16.0	2572.924	-29.4
2009	5019.905	49.4	1410.28	-45.2
2010	4624.899	-7.9	3002.761	112.9
2011	5202.351	12.5	6641.869	121.2
2012	6428.577	23.6	4793.379	-27.8
2013	7499.089	16.7	5115.7	6.7
2014	7084.199	-5.5	5163.823	0.9
2015	8687.948	22.6	6384.75	23.6
2016	9290.137	6.9	6063.648	-5.0
2017	12014.45	29.3	7527.006	24.1
2018	11936.43	-0.6	7386.663	-1.9

Kaynak: www.sbb.gov.tr.

Çizelge 2’de 1998- 2018 inceleme döneminde tarımda sabit sermaye yatırımları, kamu ve özel sektör sabit sermaye tutarları ve değişim oranları birlikte sunulmaktadır. Tarım sektöründe kamu sektörü yatırımlarında genişleme gözlenmektedir. Tarım sektöründe kamu ve özel sabit sermaye yatırımlarının tutarları ve bir önceki yıla göre değişim oranları yer almaktadır. Özel sektör sabit sermaye yatırımlarının bir önceki yıla göre en yüksek değişimin olduğu yılın 2004 yılı olduğu görülmektedir. Onu sırasıyla 2011 ve 2010 yılları izlemektedir. 1999- 2003, 2008- 2010 ve 2012- 2018 yılları arasında ise kamu sektörü sabit sermaye yatırımlarının, özel sektör sabit sermaye yatırımlarından daha fazla olduğu anlaşılmaktadır.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada Türkiye’de tarımsal sabit sermaye yatırımları ile tarımsal büyüme arasındaki ilişki 1995-2018 dönemini kapsayan yıllık veriler kullanılarak incelenmeye çalışılmıştır. Verilere ait tanımlamalar Çizelge 3’de gösterilmektedir. Tarımsal büyüme değişkenini temsilen tarımsal üretim değerinin yıllık değişim oranı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan değişkenlerden tarımsal istihdam dışındaki verilerin logaritması alınıp analize dahil edilmiştir.

Çalışmada öncelikle değişkenler için birim kök testlerinden ADF birim kök testi uygulanmıştır. Değişkenlerin farklı seviyelerde durağan olmalarının tespit edilmesi üzerine VAR modeli tahmin edilmiştir. Daha sonra değişkenler arasındaki ilişkinin ve yönünün araştırılması için Granger nedensellik analizi testi uygulanmıştır.

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan veriler

Değişkenler	Değişkenlerin Kullanılması	Kaynak
LNTB	Tarımsal büyüme (%)	Strateji ve Bütçe Başkanlığı
LNÖSSY	Özel sektör sabit sermaye yatırımları	Strateji ve Bütçe Başkanlığı
LNKSSY	Kamu sektörü sabit sermaye yatırımları	Strateji ve Bütçe Başkanlığı
İST	Tarımsal istihdam	Strateji ve Bütçe Başkanlığı

3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

3.1. Birim kök testi

Zaman serisi analizinde öncelikle değişkenlerin durağanlıklarının belirlenmesi gerekmektedir. Zaman serilerinin durağan olmaması sahte regresyon sorununu ortaya çıkarmakta ve bu serilerden ortaya çıkan sonuçlar gerçek ilişkiyi yansıtmamaktadır (Gujarati, 1999). Değişkenlerin birim kök içerip içermedikleri Genişletilmiş Dickey Fuller (ADF) testi yardımıyla araştırılmıştır.

Birim kökün varlığının sınanması halinde hipotezler aşağıdaki gibidir:

$H_0: \alpha=0$ Seride birim kök vardır.

$H_1: \alpha<0$ Seride birim kök yoktur.

Çalışmada tarımsal büyüme ve sabit sermaye yatırımları arasındaki ilişkinin incelenmesi üzerine değişkenler için öncelikle ADF birim kök testi uygulanmıştır. Çizelge 4’de ADF birim kök testi sonuçları gösterilmektedir.

Çizelge 4. ADF birim kök testi sonuçları

Değişkenler	C		ADF		C+T	
	I(0)	I(1)	I(0)	I(1)	I(0)	I(1)
LNTB	-7.2753***	-4.7099	-4.7099	-2.7856	-4.7099	-2.7856
LNÖSSY	-1.4569	-1.7706	-5.0354***	-4.9599***	-5.0354***	-4.9599***
LNKSSY	-1.5494	-1.8114	-4.4723**	-4.3758**	-4.4723**	-4.3758**
İST	-2.1518	-1.2971	-5.9659***	-3.5539*	-5.9659***	-3.5539*

Not: *, **, *** sırasıyla %10, %5 ve %1 anlamlılık değerlerini göstermektedir.

ADF birim kök testinin sonuçlarının verildiği Çizelge 4’e göre, çalışmada kullanılan bütün değişkenlerin durağan oldukları görülmektedir. Çizelge’den de görüldüğü üzere bağımlı değişken olan tarımsal büyüme değişkeninin seviyesinde durağan olduğu görülürken diğer değişkenlerin birinci farkında durağan olduğu görülmektedir.

3.2. VAR modeli testi

İktisadi değişkenler arasındaki ilişkinin çok yönlü olması ve karmaşıklığı eşanlı denklem sistemlerinin kullanılabilirliğini ortaya çıkarmaktadır. İktisadi değişkenler arasındaki karmaşık ilişkiler analizin tutarlılığını etkilemektedir. Dolayısıyla eşanlı denklem sistemlerinde bu tür problemleri giderebilmek amacıyla model üzerinde bazı kısıtlamalar yapılmalıdır (Adrian ve Darnell, 1990). Bu tür sorunların ortadan kaldırılması için VAR modeli önerilmektedir (Mucuk ve Alptekin, 2008). VAR modelinin kurulması ile elde edilen parametrelerin yorumlanmasından ise, tahmin sonuçlarının artıklarının analizi yapılarak, geleceğe yönelik çıkarımların yapılması tercih edilmektedir (Tarı ve Bozkurt, 2006).

Çalışmada tarımsal büyüme ve sabit sermaye yatırımları arasındaki ilişkinin incelenmesi üzerine kurulan VAR modeli Çizelge 5’de verilmiştir. Öncelikle değişkenler için uygun gecikme uzunluğunun belirlenmesi gerekmektedir.

Çizelge 5. VAR modeli uygun gecikme uzunluğu kriterleri

Lag	LogL	LR	FPE	AIC	SC	HQ
0	-251.3166	NA	141398.6	23.21060	23.40897	23.25733
1	-187.4568	98.69242*	1882.788*	18.85970*	19.85156*	19.09336*

Çizelge 5’de VAR modeli uygun gecikme uzunluğu kriterleri verilmiştir. Çizelge’de görüldüğü gibi bütün bilgi kriterlerinin 1 gecikme uzunluğunda uygun olduğu görülmektedir. Hata terimleri için uygulanan otokorelasyon LM testi sonuçları Çizelge 6’da verilmiştir.

Çizelge 6. Otokorelasyon LM testi sonuçları

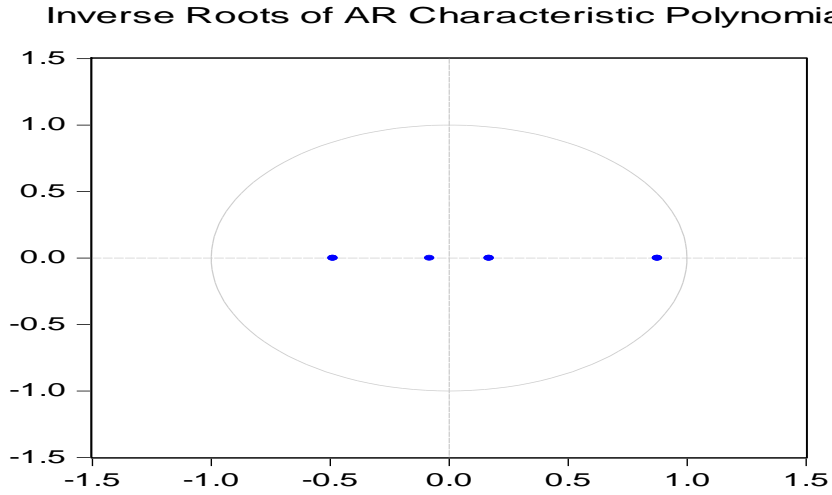
Gecikme	LM-İstatistik	Olasılık
1	15.80758	0.4665
2	15.70986	0.4734

Çizelge 6'daki sonuçlar % 5 anlamlılık düzeyinde otokorelasyonun olmadığı yönündedir. Hata terimlerinin varyansının bütün örneklem için sabit olup olmadığını belirlemek için White Heteroskedasticity (White Değişen Varyans Testi) Test sonucu Çizelge 7'de verilmiştir.

Çizelge 7. White değişen varyans testi sonucu

Ki-kare	Std.	Olasılık
84.32271	0.3489	0.3489

Çizelge 7'deki White testi sonuçlarına göre olasılık değerinin 0.05'ten büyük olması değişen varyans olmadığı, yani hata teriminin varyansının bütün gözlemler için aynı olduğu anlamına gelmektedir.



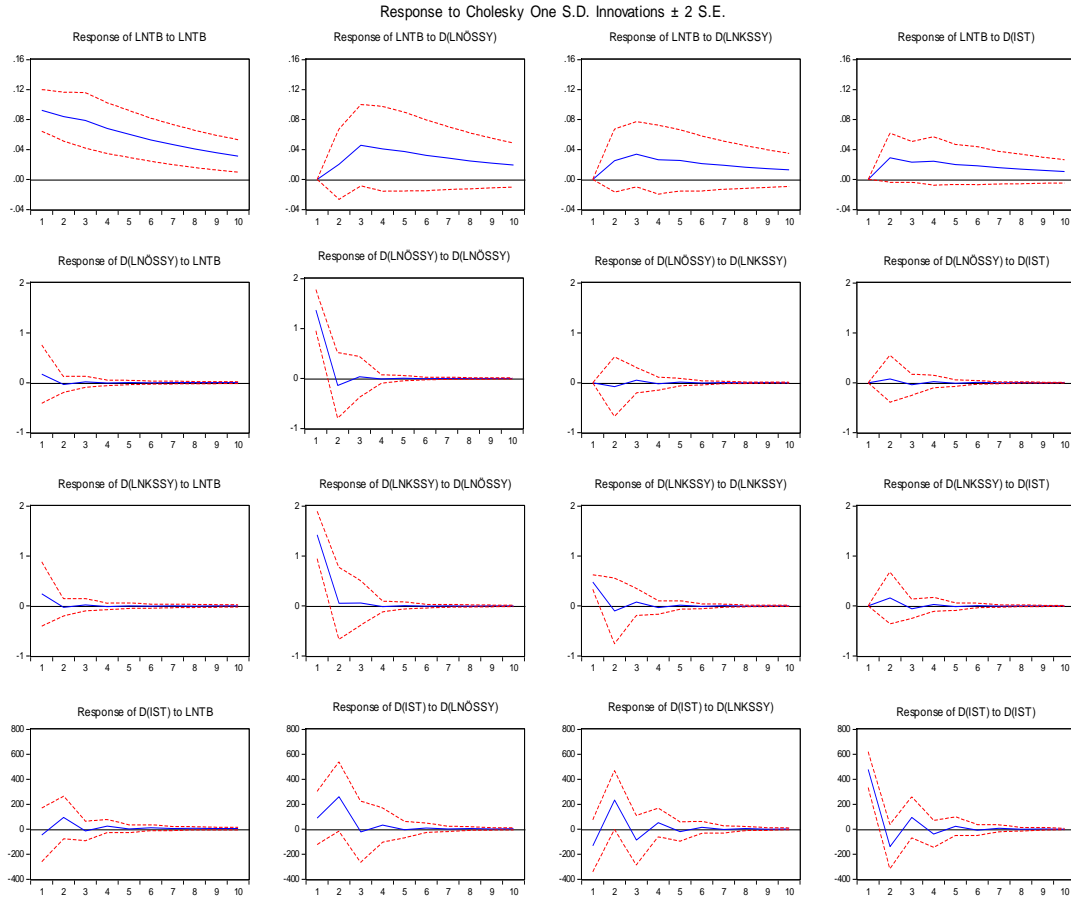
Şekil 1. AR karakteristik polinomun ters köklerinin birim çember konumu.

Şekil 1'de tarımsal büyümenin bağımlı değişken ve sabit sermaye yatırımları değişkeninin bağımsız değişken olarak seçilmesiyle kurulan VAR modeli için, AR karakteristik polinomunun ters köklerinin birim çember içerisindeki konumları, modelde durağanlık bakımından bir sorun olmadığını ve kurulan modelin güvenilirliğinin sağlandığını ortaya koymuştur.

Çizelge 8. Tarımsal büyüme değişkeninin varyans ayrıştırma sonuçları (%)

Dönemler	Standart hata	LNTB	LNÖSSY	LNKSSY	İST
1	0.0922	100.0000	0.0000	0.0000	0.0000
2	0.1319	89.2090	2.3916	3.5843	4.8149
3	0.1655	79.3784	9.1515	6.4313	5.0385
4	0.1872	75.4088	11.896	7.0324	5.6619
5	0.2028	73.1659	13.4952	7.5468	5.7920
6	0.2139	71.8802	14.4043	7.5468	5.9428
7	0.2221	71.0377	15.0043	7.9477	6.0101
8	0.2282	70.4751	15.4035	8.0537	6.0674
9	0.2328	70.0786	15.6855	8.1330	6.1027
10	0.2362	69.7952	15.8868	8.1878	6.1300

Çizelge 8'de verilen sonuçlar ilk dönemlerde tarımsal büyüme değişkeninin % 100 gibi yüksek oranla daha çok kendi dinamikleri tarafından belirlendiğini göstermektedir. İkinci dönemden itibaren tarımsal büyüme değişkeninin kendi şoklarının etkisi azalmaya başlamıştır. Tarımsal büyüme üzerinde ikinci dönemde LNÖSSY'nın etkisi % 3, LNKSSY % 3.5, İST % 4.8'e çıkarken 6. dönemde tarımsal büyüme üzerinde LNKSSY'nın etkisi % 7.54, LNÖSSY % 14.4 ve İST % 5.94 olduğu görülmüştür. Ancak tarımsal büyüme değişkeninin özel sabit sermaye yatırımları ve kamu sabit sermaye yatırımları değişkeninden etkilenme oranı zamanla artış göstermiştir.



Şekil 2. Analizde kullanılan değişkenler için etki-tepki fonksiyonları.

Şekil 2, VAR modelinden elde edilen kümülatif etki-tepki fonksiyonlarını göstermektedir. Şekillerde dikey eksenle ilgili değişkene verilen bir standart hatalık artış şokuna diğer değişkenlerin verdiği tepkinin yönü ve büyüklüğü gösterilmektedir. Yatay eksenle ise şokun verilmesinden sonra geçen 10 yıllık dönemdeki gelişim incelenmektedir. Şekil 2'de yer alan etki-tepki fonksiyonları sonuçlarına göre, tarımsal büyüme değişkeninin kendisinin bir birim standart sapmalı şokuna karşı sürekli olarak azalma yönünde tepki verdiği görülürken, tarımsal büyüme değişkeninin özel sabit sermaye yatırımlarına, kamu sabit sermaye yatırımlarına ve tarımsal istihdam değişkenlerine karşı verdiği tepkinin önce artan oranlarda sonra azalan oranlarda olduğu görülmektedir.

3.3. Granger nedensellik analizi

Granger nedensellik analizi, değişkenlerin geçmiş ve şimdiki değerleri arasında ilişkinin varlığını ve yönünü araştırır (Durkaya ve Ceylan, 2006). Değişkenler arasındaki nedensellik ilişkisi aşağıdaki Çizelge 9'da verilmiştir.

Çizelge 9. Granger Nedensellik Analizi

Değişkenler	LNTB	LNÖSSY	LNKSSY	İST
LNTB	-	0.0035	0.0914	4.0807
		0.9530	0.7624	0.0434**
LNÖSSY	1.7499	-	0.0353	0.7242
	0.1859		0.8509	0.3948
LNKSSY	2.7330	0.0403	-	3.1724
	0.0983*	0.8409		0.0749*
İST	3.3786	0.1046	0.3816	-
	0.0660*	0.7463	0.5367	

VAR tahmininden elde edilen Granger nedensellik testi Çizelge 9’da gösterilmektedir. Granger nedensellik testinden elde edilen sonuçlara göre tarımsal büyüme ile istihdam arasında çift yönlü ve kamu sabit sermaye yatırımlarından da tarımsal büyümeyle tek yönlü nedensellik ilişkisi olduğu ortaya çıkmıştır. Yani tarımsal büyüme ve istihdam arasındaki ilişkinin çift yönlü olması her iki değişkenin de birbirini etkilediği şeklinde yorumlanmaktadır. Tarımsal kamu sabit sermaye yatırımları ile tarımsal büyüme arasındaki ilişki ise kamu sabit sermaye yatırımlarından tarımsal büyümeyle doğru bir etkinin olduğunu göstermektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar literatürdeki çoğu çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Terin ve ark. (2013)’de yaptıkları çalışmalarında, sabit sermaye yatırımlarının tarımsal büyümeyle olumlu yönde etkilediğini ifade etmişlerdir. Teyyare (2018) ise araştırmasında sabit sermaye yatırımlarının diğer sektörlerle birlikte tarım sektörü için de ekonomik büyüme etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda tarım sektöründe gerçekleştirilen 1 birimlik artışın, bağımlı değişken olan büyüme üzerinde yaklaşık olarak 0.43 birimlik bir artış meydana getirdiğini tespit etmiştir. Elde ettiği bu sonuca göre tarım sektöründeki yatırımların ekonomik büyümeyle artırdığını belirtmiştir. Uluslararası literatürde ise konuyla ilgili olarak Roy ve Pal (2002) araştırmalarında hem kamu hem de özel yatırımların tarımsal üretkenlik ile pozitif bir ilişkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca, yatırımın verimlilik üzerindeki etkisinin sübvansiyonların etkisinden daha güçlü olduğunu bulmuşlardır. Dubská (2006) tarafından yapılan çalışmada, sabit varlıklara yapılan yatırımların gayri safi yurtiçi hasıladaki payının, ekonominin gelecekteki gelişiminin önemli bir göstergesi olduğunu, ancak tüm türlerinin gelecekteki ekonomik büyümeyle aynı şekilde katkıda bulunmadığını belirtmektedir (Dubská, 2006). Zhang ve ark., (2014) araştırmalarında tarımsal AR-GE ve yayım çalışmalarına yapılan kamu yatırımlarının tarımsal verimliliği artırdığını belirtmişlerdir. Singh ve ark., (2015), tarıma yapılan kamu yatırımlarının eğilimlerini ve tarıma yapılan kamu yatırımının, tarımsal büyüme üzerindeki uzun vadeli etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda tarıma yapılan kamu yatırımlarının inceleme dönemi için bazı dönemler hariç, büyüme oranına olumlu etkisinin olduğunu saptamışlardır. Ayrıca tarımda kamu ve özel yatırım arasında uzun dönemli bir ilişkinin varlığını ortaya koymuşlardır.

4. Sonuç

Tarımsal sabit sermaye yatırımları ile tarımsal büyümenin pozitif olarak birbirine bağlı olduğu ve kaynak tahsisi ve yoksulluğun azaltılmasına yönelik kamu politikası üzerinde güçlü etkilerinin olduğu düşünüldüğünde, yapılan yatırımların etkilerinin birbirleri arasındaki ilişkiler ve ilişkilerin yönlerinin tespiti önemli çalışma konularını oluşturmaktadır.

Gelişmiş ülkelerde tarım sektörünün ekonomik büyümeyle katkısı son yıllarda giderek azalmasına rağmen gelişmekte olan ülkelerde ekonomik büyümede tarım sektörü önemini korumaktadır. Tarımın ekonomik büyüme içerisindeki payında tarım sektöründe hızlı bir gelişimin etkili olduğu düşünülmektedir. Bunun için de tarımda sabit sermaye yatırımları önemli bir politika aracı olarak görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı Türkiye’de sabit sermaye yatırımları ile tarımsal büyüme arasındaki ilişkinin 1995-2018 dönemini kapsayan yıllık veriler kullanılarak incelenmesidir. Bu amaçla 1995-2018 yılları için VAR Modeli kurulmuş ve Granger nedensellik analizi yapılmıştır. VAR Modelinden elde edilen varyans ayrıştırması ve etki tepki fonksiyonlarının sonuçlarına göre değişkenlerin etkileşim içinde olduğu ve tarımsal büyümenin sabit sermaye yatırımları ve istihdam değişkenlerinden etkilendiği tespit edilmiştir. Granger nedensellik analizi sonuçları ise tarımsal büyüme ile istihdam

arasında çift yönlü ve kamu sabit sermaye yatırımlarından da tarımsal büyüme tek yönlü nedensellik olduğu yönündedir.

Ekonomik istikrarın sağlanmasında ve sermaye stokunun oluşturulmasında önemli bir yeri olan yatırımların aynı zamanda tarımsal gelişmenin sağlanması konusunda da önemi yadsınamaz. Tarımsal yatırımlar özellikle üretim kapasitesi ve verimlilik artışı nedeniyle tarımsal gelişmeyi arttırmaktadır. Yapılan analiz sonucunda kamu sabit sermaye yatırımlarının tarımsal büyümeyi etkileyebileceği göz önüne alındığında tarımsal büyüme için kamu sabit sermaye yatırımlarının sürekliliğinin sağlanmasının önemli olduğu ifade edilebilmektedir. VAR Modeli sonucunda da görüldüğü gibi tarımsal büyümenin sadece kamu sabit sermaye yatırımları değil, özel sabit sermaye yatırımlarından da etkilendiği görülmektedir. Bununla birlikte çalışma sonucunda tarım sektöründe kamu ve özel sabit sermaye yatırımları arasında uzun dönemli bir ilişkinin varlığından söz edilmektedir. On birinci kalkınma planında da üretkenlik ve yenilikçilik odaklı sabit sermaye yatırımlarının artışına yönelik beklentiye dayanarak, tarım sektöründe de bu yöndeki sabit sermaye yatırımlarının tarımsal büyüme katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynakça

- Adrian, C., & Darnell, A. (1990). *Dictionary of Econometrics*. England: Edward Elgar Publications.
- Akber, N., & Paltasingh, K. R. (2019). Is public investment complementary to private investment in Indian agriculture? Evidence from NARDL approach. *Agricultural Economics*, 50, 643–655.
- Bathla, S. (2014). Public and private capital formation and agricultural growth in india: state level analysis of inter-linkages during pre- and post-reform periods. *Agricultural Economics Research Review*, 27(1), 19-36.
- Bayraktutan, Y., & Arslan, İ. (2008). Türkiye’de sabit sermaye yatırımlarının ekonomik büyüme üzerindeki etkisi: kointegrasyon analizi (1980-2006). *KMU İİBF Dergisi*, Yıl:10 Sayı, 14.
- Benfica, R., Cungura, B., & Thurlow, J. (2019). Linking agricultural investments to growth and poverty: An economywide approach applied to Mozambique. *Agricultural Systems*, 172, 91-100.
- Butzer, R., Mundlak, Y., & Larson, D. F. (2010). Measures of Fixed Capital in Agriculture <https://elibrary.worldbank.org/doi/abs/10.1596/1813-9450-5472> Erişim tarihi: 07.02.2020.
- Cengiz, S., & Baydur, C. M. (2010). Kırdan kente göç ve tarımsal verimlilik: Türkiye örneği. *Ç.Ü. Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 19(2), 85 – 98.
- Doğan, B. & Tümer İkikat, E. (2019). Çiftçilerin iyi tarım uygulamalarına katılma istekliliklerini etkileyen değişkenler: Kahramanmaraş ili örneği. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (4), 611- 617.
- Donckt, M.V. & Chan, P. (2019). The new FAO global database on agriculture investment and capital stock. *FAO Statistics Working Paper* 19-16. Rome.
- Dubská, D. (2006). Investice a ekonomický růst v České republice: kam se ztrácí vysoká míra investic? /Investments and the Economic Growth in the Czech Republic: Where the High Rate of Investments is Disappearing to?(Akt. Žídková, D., Řezbová, H., Rosochatecká, E., 2011. Analysis of Development of Investments in the Agricultural Sector of the Czech Republic. *Agris on-line Papers in Economics and Informatics*, Volume 3/ 1.).
- Durkaya, M., & Servet, C. (2006). Vergi gelirleri ve ekonomik büyüme. *Maliye Dergisi*, 1(150), 79-89.
- Fan, S., Gulati, A., & Thorat, S. (2008). Investment, subsidies, and pro-poor growth in rural India. *Agricultural Economics*, 39, 163–170.
- Gujarati, D. N. (1999). *Temel Ekonometri*. (Çev. Ü. Şenesen ve G.G. Şenesen). Literatür Yayınları. İstanbul.
- Li, Y., & Wang, Y. (2011). The correlation studies of agricultural investment elements and agricultural benefits. <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?arnumber=5999305> Erişim tarihi: 15.02.2020.
- Mucuk, M., & Alptekin, V. (2008). Türkiye’de vergi ve ekonomik büyüme ilişkisi: VAR analizi (1975-2006). *Maliye Dergisi*, 155, 159-174.
- Olgun, F. A., Işın, Ş., & Işın, F. (2018). Türkiye’de tarımsal GSYH ile tarımsal yatırımlar arasında nedensellik ilişkisi. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 24, 1- 10.

- Roy, B.C., & Pal, S. (2002). Investment, agricultural productivity and rural poverty in India: A state level analysis. *Indian Journal of Agricultural Economics*, October-December, 57(4), 653-678.
- Singh, A., Pal, S., & Jha, G. K. (2015). Transitioning India's public expenditure in agriculture towards higher growth and equity. *Ind. Jn. of Agri. Econ.* 70(3), 246- 258.
- Sivagnanam, K. J., & Murugan, K. (2016). Impact of public investment on agriculture sector in India. *Journal of Economic & Social Development*, Vol. - XII, No. 2, December.
- Tarı, R., & Bozkurt, H. (2006). Türkiye'de istikrarsız büyümenin VAR modelleri ile analizi (1991.1-2004.3). *İstanbul Üniversitesi İktisat Fakültesi Ekonometri ve İstatistik Dergisi*, 4, 12-28.
- Terin, M., Aksoy, A., & Güler, İ. O. (2013). Tarımsal büyümeye etki eden faktörlerin belirlenmesi üzerine bir çalışma. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(3), 41-50.
- Teyyare, E. (2018). Sektörel bazda sabit sermaye yatırımlarının ekonomik büyüme üzerinde etkisi: Türkiye örneği. *Maliye Araştırmaları Dergisi*, 4(2), 115- 129.
- Zepeda, L. (2001). Agricultural investment, production capacity and productivity. in L. zepeda, eds. agricultural investment and productivity in developing countries. *FAO Economic and Social Development Paper*, 148.
- Zhang, D., Chen, C., & Sheng, Y. (2014). Public investment in agricultural R&D and extension An analysis of the effects on Australian broadacre farming productivity. *China Agricultural Economic Review*, 7(1), 86-101.



Araştırma Makalesi (Research Article)

CaCl₂ Solution Sprayed on Leaves Changes the Nutrition and Qualitative Properties of Pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar)

Serdar TOPRAK*¹

¹Directorate of Agricultural Production and Training Center, Dep. of Plant Production, Soke/Aydın, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-3939-8530>

*Sorumlu yazar e-posta: serdar.toprak@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 02.10.2020
Kabul: 16.03.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.804052

Anahtar kelimeler

Calcium chloride,
Foliar fertilization,
Quality,
Nutrition.
Pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar),
Yield.

Abstract: The purpose of this experiment was to define the influence of different doses of calcium chloride (CaCl₂) applications on fruit yield, some quality properties, and nutrition of plant in Hicaznar pomegranate cultivar during 2016 and 2017 in Aydın (Turkey) ecological condition. In the study, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, and 1.0% solutions of calcium chloride (CaCl₂) were applied by spraying except the control dose to the trees. The solution doses were twice applied during the fruit growing season in June and August. According to the results, fruit yield, peel thickness, fruit length, diameter, and weights were increased compared to control dose with CaCl₂ applications. Foliar CaCl₂ applications increased foliar Ca content by 60%. Concentrations of other plant nutrients other than N and Ca were decreased in parallel with increasing CaCl₂ doses. Foliar P content was not affected in this case. As a result, the amount of CaCl₂ solution to be applied to leaves in Hicaznar pomegranate was determined as 0.6%.

Yapraklara Püskürtülen CaCl₂ Çözeltisi Nar (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar)'ın Beslenme ve Niteliksel Özelliklerini Değiştirir

Article Info

Recieved: 02.10.2020
Accepted: 16.03.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.804052

Keywords

Kalsiyum klorür,
Yaprak gübreleme,
Kalite,
Beslenme.
Nar (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar),
Verim,.

Öz: Bu çalışmanın amacı, Aydın (Türkiye) ekolojik koşullarında 2016 ve 2017 yıllarında Hicaznar çeşidinde farklı dozlarda kalsiyum klorür (CaCl₂) uygulamalarının meyve verimi, bazı kalite özellikleri ve bitkinin beslenmesine etkisini belirlemektir. Çalışmada ağaçlara kontrol dozu dışında % 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0 kalsiyum klorür (CaCl₂) çözeltileri püskürtülerek uygulanmıştır. Çözelti dozları, 15 Haziran ve 15 Ağustos'ta meyve yetiştirme mevsimi boyunca iki kez uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, CaCl₂ uygulamaları ile meyve verimi, kabuk kalınlığı, meyve uzunluğu, çapı ve ağırlıkları kontrol dozuna göre artmıştır. Yaprak CaCl₂ uygulamaları, yaprak Ca içeriğini % 60 arttırmıştır. Artan CaCl₂ dozlarına paralel olarak N ve Ca dışındaki diğer bitki besin maddelerinin konsantrasyonları azalmıştır. Yaprak P içeriği bu durumda etkilenmemiştir. Sonuç olarak Hicaznar çeşidinde yapraklara uygulanacak CaCl₂ uygulama dozu % 0.6 olarak belirlenmiştir.

1. Introduction

Pomegranate's homeland Turkey, Middle East, south-southeast of Iran, the Caucasus and including also northern India is known to be a large region. The fruit of the pomegranate, which is one of the subtropical climate fruit species, can be evaluated in various ways in the food industry as well as

for fresh consumption (Çelik et al., 2019). Today, pomegranate cultivation is carried out in a wide area from Australia to South Africa, USA and China (Ünal, 2011). Hicaznar pomegranate is one of the main varieties in pomegranate cultivation in Turkey. Turkey's total pomegranate production was realized as 600 021 tonnes in 2020 (TUIK, 2020).

Calcium is an obligatory and a very important mineral for plants. It performs structural functions in the cell walls and membranes of the plant. It is also required as a balancing agent against inorganic and organic anions. Middle lamellae of cells that expand in calcium deficiency weaken and crack. (White, 2001; Asgharzade et al., 2012).

During the development of the fruit, its nutrition is the most important factor determining fruit quality and post-harvest performance (Schuman et al., 1973). The calcium intake and distribution in the plants are affected by the movement of water in the organs that become apparent and the use of calcium in the transport route (Saure, 2005). Although there is enough calcium in the garden soil, the occurrence of calcium deficiency creates great economic losses and becomes a problem for many fruit types (Montanaro et al., 2006).

Proper fruit ripening is related to calcium. The low calcium content in the fruit causes susceptibility to many physiological and pathological diseases and a short shelf life (Conway et al., 1992; Fallahi et al., 1997). It has been determined that calcium application before harvest prevents physiological disorders as well as delaying maturity and increasing fruit quality in many fruit species (Hernandez Munoz et al., 2006). Foliar application of calcium significantly increases the calcium content in fresh fruit and the effectiveness of ripening and aging-related changes (Pooviah, 1979).

This study was carried out based on the method of spraying pomegranate leaves at different levels and in two periods of CaCl₂, a powerful source of calcium, and the results of the effects on some quality characteristics and nutrition of pomegranate are discussed in this article.

2. Materials and Methods

The experiment was conducted during 2016 and 2017 in a 25 years old Hicaznar pomegranate cultivar commercial orchard located in Aydın (Turkey) ecological condition. In the vegetation duration (between March and November), the total rainfall is 660.9 mm in 2016 and 729.1 mm in 2017. In addition, the average temperature was 20.1 °C in 2016 and 21.2 °C in 2017. The average temperature in the research duration is coherent with the long-term average temperature (20.5 °C) and the total rainfall is compatible with the long-term total rainfall (647.0 mm).

In April, soil samples were taken from the research orchard, air-dried, and sieved through a 2 mm sieve. The soil characteristics and analysis methods of the orchard were presented in Table 1. When the orchard soil analysis results are evaluated; pomegranate orchard is lower calcareous and medium organic matter content, slightly acidic, clay loamy, and lower salinity (EC: Electrical conductivity). However, it was determined that soil samples were sufficient by macro and micronutrients (Kacar, 1994).

Leaf samples were collected on four sides of the trees from that year's shoots to determine leaf nutrient concentrations. The samples were before washed with mains water and after with distilled water. Then dried at 65 ± 5 °C for 2 days. Samples removed from the oven were made ready for analysis. Total N, Kjeldahl method, foliar P concentration spectrophotometrically (Shimadzu UV-1208, 430 nm), K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, and Mn contents were analyzed using atomic absorption spectrophotometer (Kacar and İnal, 2008).

The research was planned according to the randomized parcel design. The applications are stated below.

1- Control (0% CaCl₂ tree⁻¹), 2- 0.20% CaCl₂ tree⁻¹, 3- 0.40% CaCl₂ tree⁻¹, 4- 0.60% CaCl₂ tree⁻¹, 5- 0.80% CaCl₂ tree⁻¹, 6- 1.00% CaCl₂ tree⁻¹

Table 1. Some soil physicochemical characteristics of the research orchard (0-30 cm)

Soil characteristics (0-20 cm depth)		Methods	Soil characteristics (0-20 cm depth)		Methods
Soil texture	Clay loamy	Bouycous	Potassium (mg kg ⁻¹)	280.2	NH ₄ OAc
EC (dS m ⁻¹)	0.17	Saturation sludge	Calcium (mg kg ⁻¹)	220	NH ₄ OAc
pH; 1:1 (w/v)	5.58	Saturation sludge	Magnesium (mg kg ⁻¹)	162	NH ₄ OAc
CaCO ₃ (%)	0.71	Scheibler	Iron (mg kg ⁻¹)	6.25	DTPA
Organic matter (%)	2.74	Walkley-Black	Zinc (mg kg ⁻¹)	1.24	DTPA
Total nitrogen (%)	0.124	Kjendahl	Manganese (mg kg ⁻¹)	4.14	DTPA
Phosphorus (mg kg ⁻¹)	11.57	Olsen	Copper (mg kg ⁻¹)	2.51	DTPA

NH₄OAc: Amonium Acetate, DTPA: Diethylenetriaminepentaacetic acid.

Regular fertilization was carried out in the experimental orchard. Every year, 2.5 kg of 20:20:20 compound fertilizer, 0.5 kg of potassium nitrate, and 1.0 kg of Urea were applied per tree. The experiment consisted of 3 replications, 3 trees in each replica and 6 applications; It was carried out on 54 trees (6 x 6 planting order). The CaCl₂ solutions were applied twice (June 15 and August 15) by sprayed to leaves. The water requirement of the plants was met with the drip irrigation system in the orchard. Irrigation was measured with an evaporation pot and water was applied according to the moisture in the soil. Cultural weed cleaning is done regularly in the pomegranate orchard.

Leaf samples of Hicaznar pomegranate varieties were taken 10 September in the middle of the annual shoots of fruitless (Özkan et al., 1999). As a result of applications were determined to yield per tree (kg tree⁻¹), fruit length (cm), diameter (cm), peel thickness (mm), foliar macro and micronutrients in 2016 and 2017 years.

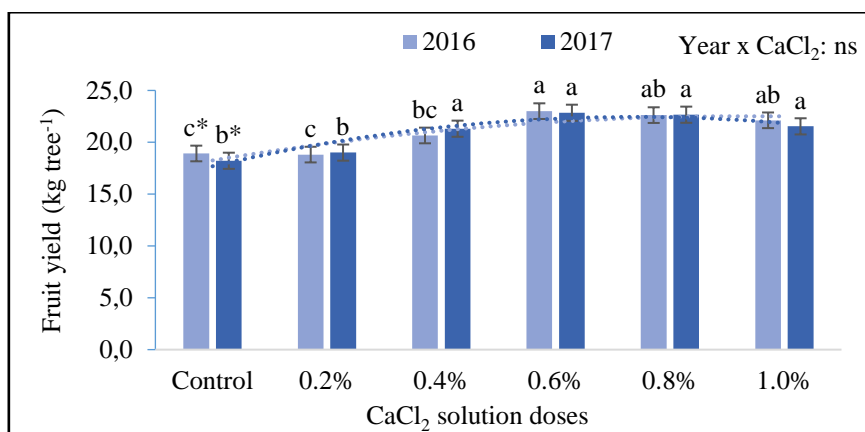
Analysis of variance (ANOVA) and Duncan's tests were conducted with a P≤0.05 significance level using SPSS Version 22 (IBM Corp., 2013) statistical software.

3. Results and Discussion

3.1. Fruit yield

Applied CaCl₂ doses, statistically increased fruit yield per tree. According to statistical results, significant relationships were found between application doses and fruit yield (Figure 1). The highest fruit yield was determined as 23.0 kg tree⁻¹ in the 2016 year and 22.8 kg tree⁻¹ in the 2017 year at 0.6% CaCl₂ dose, 22.6 kg tree⁻¹ in the first year and 22.7 kg tree⁻¹ in the second year at 0.8% CaCl₂ dose.

They reported that calcium applied by spraying to pomegranate plant was effective on yield and fruit quality in tangerine (Eroğul et al., 2011), cherry (Simon, 2006), apple (Raese, 2000 and Wojcik et al., 2002).



Letters overhead the columns indicate the effects of the Duncan test (*: P≤0.05) for the yields of the pomegranate fruit (CV₂₀₁₆: 9.52; CV₂₀₁₇: 9.46).

2016: $y = -0.1941x^2 + 2.2091x + 16.234$. R² = 0.822. LSD*: 2.10 (2016)

2017: $y = -0.3487x^2 + 3.2721x + 14.765$. R² = 0.912. LSD*: 1.77 (2017).

Figure 1. Effect of foliar CaCl₂ applications on fruit yield of pomegranate.

Fruit yield increased 23% at 0.6% CaCl₂ dose compared to the control dose. Besides, the average tree yield was realized to be around 22 kg in 0.8% and 1.0% CaCl₂ applications. Results were determined that foliar Ca applications increased fruit yield in parallel with the studies conducted by Güneri et al. (2014); Korkmaz and Aşkın (2015); Bakeer (2016).

3.2. The some quality properties of pomegranate

According to the results, statistically significant relationships were determined between the applied CaCl₂ doses and all the qualitative parameters indicated in Table 2. Only fruit diameter was not affected by CaCl₂ doses in 2016. However, statistical differences were obtained according to application doses in 2017. The highest fruit diameter was found to be 16.3 cm at a dose of 0.8% CaCl₂ in the same year. The size of the fruit is highly influenced by environmental and cultural care conditions as determined by the genetic characteristics of the variety (Al-Maiman and Ahmad, 2002).

Table 2. Effect of foliar CaCl₂ applications on some qualitative properties of pomegranate fruit

Solution doses	Fruit weight (g)		Fruit diameter (cm)		Fruit length (cm)		Peel thickness (mm)	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Control	579 ^b	585 ^b	15.5	15.3 ^c	13.2 ^b	13.3 ^b	4.71 ^b	4.82 ^c
0.2% CaCl ₂	604 ^{ab}	598 ^{ab}	15.4	15.6 ^{bc}	13.7 ^{ab}	13.6 ^b	4.82 ^b	4.88 ^{bc}
0.4% CaCl ₂	605 ^{ab}	610 ^{ab}	15.3	15.2 ^c	13.8 ^{ab}	13.9 ^{ab}	4.93 ^a	4.92 ^{abc}
0.6% CaCl ₂	626 ^a	624 ^a	15.7	16.0 ^{ab}	14.2 ^a	14.4 ^a	4.96 ^a	4.97 ^{ab}
0.8% CaCl ₂	619 ^{ab}	622 ^a	15.8	16.3 ^a	14.1 ^{ab}	14.5 ^a	4.97 ^a	5.03 ^a
1.0% CaCl ₂	617 ^{ab}	611 ^{ab}	15.4	15.3 ^c	14.0 ^{ab}	13.9 ^{ab}	5.02 ^a	4.95 ^{ab}
LSD *	6.98	11.33	ns	0.26	0.17	0.57	0.18	0.03
Year x CaCl ₂	ns		ns		ns		ns	
CV (%)	3.95	3.45	2.27	3.04	3.95	3.88	5.47	4.75

ns: not significant, * : (P≤ 0.05).

The highest fruit weights were recorded as 626 g in the 2016 year and 624 g in the 2017 year at a dose of 0.6% CaCl₂. However, the highest fruit length was determined as 14.2 and 14.4 cm at 0.6% CaCl₂ dose in both application years, respectively. Finally, in parallel with increasing application doses, fruit peel thickness increased. The highest fruit peel thickness value was 5.02 mm at 1.0% CaCl₂ application in the first year and 5.03 mm at 0.8% CaCl₂ application in the second year. In some pomegranate varieties, it has been determined that there is a relationship between some morphological and physiological characteristics, leaf characteristics, and nutritional level, and a high correlation between leaf N and K / Ca ratio and pell thickness (Hepaksoy et al., 1998). In many studies, it was determined that foliar calcium applications increased pomegranate fruit quality properties (Bakeer, 2016; Korkmaz et al., 2016).

3.3. The macro and micro nutrients status of pomegranate leaves

The effect of CaCl₂ solution doses on the change of macronutrients in pomegranate leaves is presented in Table 3. The findings obtained in this study clearly demonstrate the effect of CaCl₂ solution doses on the intake of macronutrients and the interaction between them.

Although the doses of CaCl₂ applied did not change statistically the N level of the plant in the 2016 year, major differences were obtained in the 2017 year. The highest N level was determined at 0.6% CaCl₂ dose (2.0% N). However, there was no statistically significant change in P level of the plant. On the other hand, reductions in foliar P concentrations were recorded in the final doses compared to the control.

Foliar K concentrations were tended to decrease rapidly after the first dose (0.2% CaCl₂). The highest K concentration was detected in 0.2% CaCl₂ dose (2016: 1.67%, 2017: 1.65%), and the lowest at 1.0% CaCl₂ dose (2016: 1.52%, 2017: 1.55%). As expected in the study, as CaCl₂ doses increased, foliar Ca concentrations increased at the same rate. This increase is 15% on average. However, foliar Mg concentrations gave a negative response to the administered CaCl₂ doses and the lowest value was recorded at the last application dose. As a result, increasing doses of CaCl₂ solution doses increased

the only N and Ca concentrations in plants, but decreased P, K and Mg concentrations. Results of leaf analyses indicated that Ca application runs to a significant increase in the foliar Ca content when matched with the control dose. Increases in Ca contents after foliar Ca applications have been previously reported by Korkmaz et al. (2016).

Table 3. Effect of foliar CaCl₂ applications on macronutrient of pomegranate leaves

Solution doses	N (%)		P (%)		K (%)		Ca (%)		Mg (%)	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Control	1.87	1.86 ^b	0.17	0.19	1.64 ^{ab}	1.64 ^a	1.82 ^c	1.85 ^c	0.62 ^a	0.63 ^a
0.2% CaCl ₂	1.90	1.87 ^b	0.19	0.18	1.67 ^a	1.65 ^a	1.94 ^d	1.93 ^b	0.63 ^a	0.62 ^a
0.4% CaCl ₂	1.92	1.93 ^{ab}	0.18	0.18	1.64 ^{ab}	1.61 ^{ab}	1.98 ^c	1.94 ^b	0.60 ^{ab}	0.60 ^{ab}
0.6% CaCl ₂	1.98	2.00 ^a	0.17	0.18	1.59 ^b	1.59 ^{bc}	2.04 ^b	2.05 ^a	0.59 ^b	0.60 ^{ab}
0.8% CaCl ₂	1.93	1.96 ^{ab}	0.17	0.17	1.58 ^{bc}	1.57 ^{cd}	2.06 ^b	2.05 ^a	0.57 ^{bc}	0.57 ^{bc}
1.0% CaCl ₂	1.94	1.93 ^{ab}	0.17	0.16	1.52 ^c	1.55 ^d	2.10 ^a	2.09 ^a	0.56 ^c	0.56 ^c
LSD *	ns	0.02	ns	ns	0.03	0.03	0.04	0.12	0.03	0.02
Year x CaCl ₂	ns		ns		ns		ns		ns	
CV (%)	3.47	3.44	8.53	8.29	3.72	2.69	4.86	4.74	4.58	4.71

ns: not significant * : (P≤0.05).

Interaction between nutrients in cultivated plants are closely related to plant nutrition and quality characteristics. In this context, calcium is an element that is subject to much work. Calcium, especially phosphorus, potassium, magnesium, and microelements have been confirmed by many studies (Altuntaş, 2016; Güneri et al., 2014; Eroğul 2011; Kacar and Katkat, 1998; Hepaksoy et al.,1998).

The high amount of Ca accumulation in the leaves is in contention with K, Mg and other micronutrients, especially P. Besides, Ca / N balance in the plant must be in balance for plant growth. The amount of Ca in the plant stabilizes the N state in the leaf up to a certain level and at increasing levels, Ca decreases the N accumulation in the leaves (Barker and Pillbeam, 2007; Kacar and Katkat, 2011).

In a study, due to the increased low calcium concentrations in the nutrient solution, the phosphorus content of the leaves in the rice plant was not affected, but when the calcium concentrations were further increased, the decrease in phosphorus coverage was more severe (Fageria, 2001). However, the results obtained are coherent with the research of Guneri et al. (2014).The macronutrient contents of the leaves have remained within the specified limit values for pomegranate (Sheik, 2006).The effect of CaCl₂ solution doses on the change of micronutrients in pomegranate leaves is shown in Table 4. The findings carry out in this research plainly demonstrate the effect of CaCl₂ solution doses on the level of micronutrients.

Table 4. Effect of foliar CaCl₂ applications on micronutrient of pomegranate leaves

Solution doses	Fe (mg kg ⁻¹)		Zn (mg kg ⁻¹)		Mn (mg kg ⁻¹)		Cu (mg kg ⁻¹)	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Control	221 ^a	218 ^a	50.1 ^a	52.1 ^a	53.4 ^a	53.0 ^a	44.9 ^a	45.3 ^a
0.2% CaCl ₂	211 ^{ab}	212 ^{ab}	49.4 ^a	48.3 ^b	51.5 ^{ab}	51.4 ^{ab}	42.1 ^b	41.9 ^b
0.4% CaCl ₂	202 ^{bc}	203 ^{bc}	48.1 ^{ab}	47.5 ^b	50.3 ^b	50.5 ^b	42.0 ^b	41.2 ^b
0.6% CaCl ₂	196 ^{cd}	195 ^c	45.8 ^{bc}	45.3 ^{bc}	49.8 ^b	50.3 ^b	39.7 ^{bc}	39.9 ^{bc}
0.8% CaCl ₂	192 ^{cd}	193 ^{cd}	43.6 ^c	42.5 ^{cd}	47.2 ^c	46.5 ^c	39.4 ^{bc}	39.8 ^{bc}
1.0% CaCl ₂	186 ^d	184 ^d	39.8 ^d	40.8 ^d	45.3 ^c	46.1 ^c	38.4 ^c	38.5 ^c
LSD *	8.33	4.69	1.30	2.17	1.63	1.10	2.63	2.10
Year x CaCl ₂	ns		ns		ns		ns	
CV (%)	6.68	6.42	8.54	8.85	5.76	5.50	6.13	5.88

ns: not significant * : (P≤0.05).

In study, doses of CaCl₂ solution sprayed to leaves caused statistically significant differences in foliar micronutrient contents. Although the micronutrient contents of the leaves decreased with the

doses applied, it remained within the specified limit values for pomegranate (Sheik, 2006). According to the findings, the highest Fe, Zn, Mn and Cu contents in 2016 and 2017 years were 221, 218, 50.1, 52.1, 53.4, 53.0, 44.9, and 45.3 mg kg⁻¹, respectively.

In addition, the increase in the calcium concentration of the nutrient solution micro-elements gave a more pronounced response, this response was generally in the direction of decline (Fageria, 2001). Similarly, increasing doses of Ca applied to leaves decreased micronutrient contents in leaves parallel to the study of Güneri et al. (2014). In this case, it shows us once again that there is a negative interaction between Ca and micronutrients.

4. Conclusions

CaCl₂ solutions applied increased pomegranate fruit yield and some quality properties compared to the control dose. Increases in fruit yield, fruit weight, diameter, height, and peel thickness were determined as average 21%, 7.5%, 9%, 8%, and 13%, respectively. The applied CaCl₂ solutions were increased the N and Ca concentrations compared to the control dose and no significant change was determined in the foliar P content. However, foliar K, Mg, Fe, Zn, Mn, and Cu concentrations were decreased. However, these decrease did not exceed 15% rate compared to control doses in the pomegranate leaves. The level of all plant nutrients in the leaves remained within the specified standard level ranges. Supplemental studies would be essential to anymore update the content and timing of the Ca fertilizations, with the purpose to reduce the proportion of some physiological irregularity and optimized nutrient in products such as pomegranate, which limits fruit qualitative and quantitative properties every year.

References

- Al-Maiman, S.A., & Ahmad, D. (2002). Changes in physical and chemical properties during Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit Maturation, *Food Chemistry*, 76, 437-441.
- Altuntaş, Ö. (2016). Prohexadione-Ca uygulamalarının domateste bitki büyümesi besin element alımı ve meyve kalitesi üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26 (1) , 98-105.
- Asgharzade, A., & Babaeian, M. (2012). Foliar application of calcium borate and mikronutrients effects on some characters of apple fruits in Shirvan Region. *Annals of Biological Research*, 3 (1), 527-533.
- Bakeer, S.M. (2016). Effect of ammonium nitrate fertilizer and calcium chloride foliar spray on fruit cracking and sunburn of Manfalouty pomegranate trees. *Sci. Hortic.* 209, 300–308.
- Barker A.V., & Pilbeam D.J. (2007) *Handbook of Plant Nutrition*. Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis Group.
- Conway, W. S., Sams, C. E. & Kelman, A. (1992). Enhancing the natural resistance of plant tissues to postharvest diseases through calcium applications. *Hortscience*, (29),7,751-754.
- Çelik, F., Gündoğdu, M., & Zenginbal, H. (2019). Bazı nar genotiplerine ait meyvelerin organik asit ve C vitamini profili . *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (3) , 489-495.
- Eroğul, D., & Erdoğan B.S. (2011). *Satsuma mandarininde giberellik asit ve kalsiyum uygulamalarının bazı mikro ve makro besin alımına etkileri*. Gap VI. Tarım Kongresi. 09-12 Mayıs 2011.Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Şanlıurfa.
- Fageria, V.D. (2001). Nutrient interactions in crop plants. *Journal of Plant Nutrition*. 24(8), 1269-1290.
- Fallahi, E.,Conway,W.S., Hickey, K.D., & Sams, C.E. (1997). The Role of calcium and nitrogen in post harvest quality and disease resistance of apples. *Horticultural Science*, 32, 831–835.
- Güneri, M., Yıldıztekin, M., Tuna, A.L., & Yokaş, İ. (2014). Hicaznar bahçelerinde kalsiyum ve potasyumlu gübrelemenin verim ve beslenme üzerine etkilerinin araştırılması. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 2014, 51 (2), 165-174.
- Hepaksoy, S., Aksoy, U., Can, H.Z., & Ul, M.A. (1998). *Determination of the relationship between fruit cracking and some physiological responses, leaf characteristics, and nutritional status of some pomegranate varieties*. I. Int. Symp. on Pomegranate, p:87-92.

- Hernandez - Munoz, P., Almenar, E., Ocio, M. J., & Gavara, R. (2006). Effect of calcium dips and chitosan coating on postharvest life of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Postharvest Biological Technology*, 39, 247–253.
- IBM Corp. (2013). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp., Armonk, NY.
- Kacar, B. (1994). *Toprak Analizleri. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri III*. A.Ü. Zir. Fak. Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No:3, Ankara, s:705.
- Kacar, B. & Katkat, A.V. (1998). *Bitki Besleme*, Uludağ Üniv. Güçlendirme Vakfı. Yayın No: 127, Vipaş Yayınları.
- Kacar, B., & İnal, A. (2008). *Bitki Analizleri*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara. p:1-892.
- Kacar, B., & Katkat, A. V. (2011). *Bitki Besleme*. Nobel Yayınları (5. Baskı) 1-678.
- Korkmaz, N. and Aşkın, M.A. (2015). Effects of calcium and boron foliar application on pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit quality, yield, and seasonal changes of leaf mineral nutrition. *Acta Horti*.1089, 413-422
- Korkmaz, N., Askin, M.A., Ercisli, S., & Okatan, V. (2016). Foliar application of calcium nitrate, boric acid and gibberellic acid affects yield and quality of pomegranate (*Punica granatum* L.).*Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*,15(3), 105–112.
- Montanaro, G., Dichio, B., Xiloyannis, C., & Celano, G. (2006). Light influences transpiration and calcium accumulation in fruit of kiwi fruit plants (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*). *Plant Science*. 170, 520–527.
- Özkan, C.F., Ateş, T., Tibet, H., & Arpacıoğlu, A. (1999). *Antalya bölgesinde yetiştirilen nar (Punica granatum L, çeşit: Hicaznar) yapraklarındaki bazı bitki besin maddelerinin mevsimsel değişiminin incelenmesi*. Paper presented at the Türkiye III. Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, s. 710-714.
- Pooviah, B.W. (1979). Role of calcium in ripening and senescence. *Soil Science Plant Analysis*, 10, 83–88.
- Raese, J. T., & Drake, S. R. (2000). Effect of calcium spray materials, rate, time of spray application and rootstocks on fruit quality of ‘Red’ and ‘Golden Delicious’ apples. *Journal of Plant Nutrition*. 23(10), 1435-1447.
- Saure, M.C. (2005). Chemical translocation to fleshy fruit: Its mechanism and endogenous control. *Science Horticulture*, 105, 65-89.
- Schuman, G. E., Stanley, M. A., & Knudson, D. (1973). Automated total nitrogen analysis of soil and plant samples. *Soil Science Society. Am. Proc.*, 37, 480-481
- Sheik, M.K. (2006). *The Pomegranate*. International Book Distributing, New Delhi. p: 1-191.
- Simon, G. (2006). Review on rain induced fruit cracking of Sweet Cherries (*prunus avium* l.), Its causes and the possibilities of prevention. *International Journal of Horticultural Science*, 12(3), 27-35.
- TUIK. (2020). Turkish Statistical Institute data basis agriculture, <http://www.tuik.gov.tr> (Date of access: 06.02.2021).
- Ünal, A. (2011). *Bahçe Tarımı – II., Yumuşak Çekirdekli Meyve Türleri ve Nar Yetiştiriciliği*, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2358, s. 16 – 19.
- White, P. (2001). The pathways of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany*, Volume 52, Issue 358, 891–899,
- Wojcik, P., & Szwonek, E. (2002). The efficiency of different foliar applied calcium materials in improving apple quality. *Acta Horticulturae*, 594 p.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Türkiye’de Yetişen Bazı Apiaceae Türlerinin Uçucu Yağlarının Kök Lezyon Nematodlarına Karşı Nematoidal Aktiviteleri

Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR^{*1}, Bekir TOSUN², Arif ŞANLI³, Tahsin KARADOĞAN⁴

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniv., Tarım, Hayvancılık ve Gıda Araş. Uyg. ve Araş. Merkezi, Burdur, Türkiye

³⁻⁴Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-1969-4041> ²<https://orcid.org/0000-0002-2470-3865> ³<https://orcid.org/0000-0002-3422-8295>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-5443-2082>

*Sorumlu yazar e-posta: btosun@mehmetakif.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 18.09.2020

Kabul: 10.04.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.796093

Anahtar kelimeler

Apiaceae,

Nematoidal etki,

Pratylenchus spp.,

Uçucu yağ.

Öz: Çalışmada Türkiye doğal florasında yetişen Apiaceae familyasına ait 12 farklı bitki türünün uçucu yağının Kök lezyon nematodlarına (*Pratylenchus penetrans*, *P. thornei* ve *P. neglectus*) karşı nematoidal etkileri incelenmiştir. Araştırma *in vitro* koşullarda yürütülmüş olup, her bir uçucu yağın 1000 ppm konsantrasyonu kullanılmıştır. Uçucu yağların nematoidal etkileri Kök lezyon nematodu türüne bağlı olarak değişiklik göstermiş, *P. neglectus* türünde *Coriondrium sativum* L., *P. thornei* türünde *Ferulago cassia* Boiss, *P. penetrans* türünde ise *Foeniculum vulgare* Miller ve *Anethum graveolens* L. uçucu yağları diğer uygulamalardan daha yüksek etkinlik göstermiştir. Uçucu yağ uygulamalarına bağlı olarak gerçekleşen nematod ölüm oranları *P. neglectus* türünde % 24.3-64.7, *P. penetrans* türünde % 23.7-66.7 ve *P. thornei* türünde % 33.7-85.0 arasında bulunmuştur. Araştırmada, uçucu yağ aktif maddelerinden linalool, phallendrene ve 2,3,6 trimetilbenzaldehyde bileşenlerini içeren bitkilerin yüksek, anethole ve carvone bileşenlerini içeren bitkilerin orta, caratol ve curzerene bileşenlerini içerenlerin ise düşük nematoksik aktivite gösterdiği anlaşılmıştır. Apiaceae familyası türlerinin *Pratylenchus* türlerine karşı nematoidal etkilerinin yüksek fakat değişken olduğu, bu nedenle yüksek aktivite gösteren uçucu yağların farklı dozlar kullanılarak arazi koşullarında etkinliklerinin denenmesi ile daha kesin sonuçlara ulaşılabileceği anlaşılmıştır.

Nematicidal Activity of Essential Oils from Apiaceae Family Plants of Turkey Against Root Lesion Nematodes

Article Info

Received: 18.09.2020

Accepted: 10.04.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.796093

Keywords

Apiaceae,

Nematicidal effect,

Pratylenchus spp.,

Essential oil.

Abstract: In our study, the nematicidal activity of 12 essential oils from Apiaceae family plants of Turkey against *Pratylenchus penetrans*, *P. thornei* and *P. neglectus* root lesion nematodes were investigated. The study was conducted *in vitro* conditions and concentration of 1000 ppm of each essential oil was used. The nematicidal effect was found to depending on root lesion nematode species and high nematicidal effect were found *P. neglectus* species; *Coriondrium sativum* L., *P. thornei* species; *Ferulago cassia* Boiss and *P. penetrans* *Foeniculum vulgare* Miller and *Anethum graveolens* L. Mortality rates depending on essential oil applications varied between 24.3-64.7% in *P. neglectus* species, 23.7-66.7% in *P. penetrans* and 33.7-85.0% in *P. thornei*. In this study, the nematicidal activity were found high that essential oil active ingredients of plants containing linalool, phallendrene and 2,3,6

trimethylbenzaldehyde components while the plants containing anethole and carvone components were medium nematocidal activity and containing carotol and curzerene components showed low. It has been understood that the nematocidal activity of Apiaceae family species against *Pratylenchus* species are high but variable, therefore, more definite results can be achieved by testing the effectiveness of highly active essential oils using different doses in field conditions.

1. Giriş

Kök lezyon nematodları (*Pratylenchus* spp.) bitkilerde en çok zarar yapan paraziti nematod gruplarından biri olup, dünyada yaygın olarak görülmektedir. Kök lezyon nematodlarının konukçu dizilerinde geniş çeşitlilik (meyveler, sebzeler ile tarla bitkilerinde) görülmesinin yanı sıra önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedirler. Kök lezyon nematodlarının hücre içi hareketi kortikal ve komşu hücrelerin ölümüne neden olmakta, membran bütünlüğünü kaybetmekte, hücrelerin organelleri dejenere olmakta ve sonucunda kökte kahverengi lekeler oluşmaktadır (Castillo ve Vovlas, 2007). Bununla birlikte birçok toprak kökenli hastalık ve zararlı etmeninin bitkiye giriş yapmasına yardımcı olmaları sonucu üründe dolaylı olarak ekonomik kayıplara neden oldukları bilinmektedir (Smiley ve Nicol, 2009). *Pratylenchus penetrans* (Cobb, 1917) Filipjev&Schuurmans Stekhoven, 1941, *Pratylenchus thornei* Sher & Allen, 1953, *Pratylenchus neglectus* (Rensch, 1924) Filipjev&Schuurmans Stekhoven, 1941, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev&Schuurmans Stekhoven, 1941, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev&Schuurmans Stekhoven, 1941, *Pratylenchus goodeyi* Sher&Allen, 1953, *Pratylenchus loosi* Loof, 1960, *Pratylenchus pratensis* (de Man, 1880) Filipjev, 1936, *Pratylenchus scribneri* Steiner Sherbakoff&Stanley, 1943, *Pratylenchus vulnus* Allen&Jensen, 1951 ve *Pratylenchus zaeae* Graham, 1951 ekonomik anlamda önemli zarar yapan türler arasında gösterilmektedir (Blair ve Stirling, 2007; Jones ve Fosu-Nyarko, 2014).

Kök lezyon nematodları ile mücadelede yaygın kullanılan yöntemler sentetik fümigantlar, nematisitler ve dayanıklı çeşit seçimidir. Nematisitlerin neden olduğu çevre sorunları, ısıl işlemlerin maliyeti ve dayanıklı çeşitlerin sınırlı sayıda olması, nematod mücadelesini biyolojik kontrol ve doğal ürünler gibi daha ekolojik alternatif yöntemlere doğru yöneltmektedir. Bazı bitki türlerinde doğal olarak sentezlenen alkaloidler, fenolik bileşikler, terpenoidler ve glikozitler gibi bazı sekonder metabolitler nematodlarla mücadelede sürdürülebilir alternatif bir yol sunmaktadır. Sekonder metabolitlerin terpenoidler grubunda yer alan uçucu yağlar, farklı yapı ve özellikte biyolojik aktif madde içermeleri nedeniyle sentetik nematisitlere alternatif olabilecek potansiyele sahip bileşiklerdendir. Uçucu yağların hedef alınmayan organizmalara düşük toksisiteye sahip olmalarının yanı sıra uygulandıkları ortamdan çabuk kaybolma özellikleri ile çevrede birikimleri ve kalıntı miktarları çok düşüktür (Figueiredo ve ark., 2008). Uçucu yağlar karmaşık yapıları sayesinde aynı zamanda fırsatçı türleri ve dirençli suşları da kontrol edebilme gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterebilmekte ve bu etki, uçucu yağların biyopestisit olarak değerlendirilme olanaklarını arttırmaktadır. Apiaceae familyanın önemli bir kısmı uçucu yağ, fenolik bileşikler ve kumarinler bakımından zengin olup tıbbi ve aromatik kullanımlarının dışında antimikrobiyal, antiviral, antifungal, nematisidal, insektisidal ve antioksidan gibi özellikler gösterebilmektedirler (Dorman ve Deans, 2000; Cavanagh, 2007; Ntalli ve ark., 2010; Lang ve Buchbauer, 2012).

Uçucu yağ kaynaklı ticari nematisitler piyasada henüz görünmüyorsa da, bitki paraziti nematodlar ile mücadelede başarı şansının artırılabilmesi için uçucu yağ formülasyonlarına dayalı yeni ürünlerin geliştirilmesi kaçınılmaz olarak görülmektedir (Renco ve ark., 2015). Nitekim Brassicaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Lauraceae ve Poaceae familyalarında yer alan bazı bitkilerin uçucu yağlarının nematisidal aktiviteye sahip olduğu daha önceki araştırmalarda ortaya konulmuştur (Andres ve ark., 2012). Uçucu yağ bileşenleri, nematod sinir sistemine etki ettiği gibi nematodun hücre zarını bozabilmekte ve geçirgenliğini değiştirebilmektedir (Oka ve ark., 2000). Apiaceae familyasına ait bazı uçucu yağların (*Carum capticum*, *Carum carvi*, *Foeniculum vulgare* ve *Pimpinella anisum*) kök-ur nematodu *Meloidogyne incognita* (Kofoid ve White, 1919) ve *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) üzerinde nematisidal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Oka ve ark., 2000; Gupta ve ark., 2011; Ntalli ve ark., 2011). Calvet ve ark. (2001), *P. brachyurus* kök lezyon

nematodu üzerine *F. vulgare* uçucu yağının yüksek nematisit etkisi olduğunu, benzaldehit, salisilaldehit, borneol, p-anisalaldehit ve cinnamaldehyde gibi uçucu bileşiklerin *P. brachyurus* türünde % 50'den fazla ölüme neden olduğunu bildirmişlerdir. Avato ve ark. (2017), *in vitro* koşullarda 15 mg/ml *Rosmarinus officinalis* uçucu yağı uygulamasında 96 saat sonra *P. vulnus* ölüm oranının % 75'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Uçucu yağ ve aktif maddelerinin Kök ur nematodlarına etkileri konusunda çok sayıda araştırma yapılmış olmakla birlikte, bu çalışmada kullanılan türlerin ve içerdikleri aktif maddelerin önemli bir kısmının nematisidal etkisi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan uçucu yağ bitkilerinin önemli bir kısmının doğal florada yetişen türler olması ve bu türlere ilişkin çalışma bulunmaması da çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır.

Çalışmada ülkemizde kültürü yapılan Apiaceae familyasına ait bazı bitki türlerinin (*Anethum graveolens* L., *Coriandrum sativum* L. ve *Pimpinella anisum* L.) ve doğal florada bulunan (*Ferulago pauciradiata* Boiss&Held (Endemik), *Foeniculum vulgare* Miller., *Ferulago cassia* Boiss, *Daucus carota* L., *Angelica sylvestris* L., *Scandix iberica* Bieb., *Kundmannia anatolica* Boiss (Endemik), *Heracleum platytaenium* Boiss.(Endemik), *Smyrniium connatum* Boiss&Kotschy) uçucu yağlarının Kök lezyon nematodlarına (*P. penetrans*, *P. thornei* ve *P. neglectus*) karşı nematoksik etkilerinin belirlenmesi ve doğal nematisit olarak kullanılabilme potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Çalışma 2018 yılında *in vitro* koşullarda yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan Kök lezyon nematodları (*P. penetrans*, *P. thornei* ve *P. neglectus*) daha önce bölgemizde yürütülen çalışma sonucunda tanımlanan türlerden (Söğüt ve Devran 2011), bitki materyalleri ise TÜBİTAK 113O284 nolu projeden (Çizelge 1) temin edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan bitki türleri ve türlere ait meyve uçucu yağlarını oluşturan önemli bileşenler

Apiaceae Türleri	S.M. Grubu	Ana Bileşenler (%)		
<i>Anethum graveolens</i> L.	Monoterpen	d-Carvone (% 51.7)	L-Limonene (% 24.8)	Dihydrocarvone (% 6.3)
<i>Angelica sylvestris</i> L.	Monoterpen	β- Phellandrene (% 29.6)	L- Phellandrene (% 16.0)	Bicyclogermacrene (% 10.4)
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Monoterpen	Linalool (% 56.3)	α-pinene (% 10.0)	Geranyl acetate (% 9.6)
<i>Daucus carota</i> Linne	Seskiterpen	Caratol (% 42.6)	γ- Cadinene (% 12.8)	β-Farnesene (% 8.82)
<i>Ferulago cassia</i> Boiss.	Aldehit	Mesitaldehide (% 25.5)	Chrysanthenyl Acetate (% 19.3)	α-pinene (% 12.1)
<i>Ferulago pauciradiata</i> Boiss & Helder	Monoterpen	Epiglobulol (% 8.4)	α-pinene (% 7.8)	Ar-Crucumene (% 7.8)
<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	Monoterpen	Trans anethole (% 75.4)	L-Limonene (% 9.06)	p-Allylanisole (% 7.78)
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss.	Ester	Octyl Butyrate (% 38.5)	Ethylhexyl Acetate (% 27.6)	Hexyl Butanoate (% 9.5)
<i>Kundmannia anatolica</i> Boiss.	Monoterpen	β- Pinene (% 33.1)	α-Pinene (% 27.9)	α-Thujene (% 8.0)
<i>Pimpinella anisum</i> L.	Fenol	Anethole (% 90.3)	Isoeugenol (% 17.4)	Humulen (% 14.2)
<i>Scandix iberica</i> Bieb.	Aldehit	n-Undecanol (% 25.0)	n-Tridecanol (% 14.7)	Adacene (% 13.5)
<i>Smyrniium connatum</i> Boiss&Kotschy	Seskiterpen	Curzerene (% 24.7)	Germacrene D (% 17.8)	Germacrene B (% 13.0)

2.2. Araştırmada kullanılan uçucu yağların üretimi

Bu çalışmada kullanılan bitkilere ait meyvelerin uçucu yağları Clevenger tipi hidro-distilasyon cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Bu amaçla her türün meyvelerinden 100 g örnek öğütüldükten sonra

distilasyon cihazının kaynatma balonunda 1/3 oranında su eklenerek 100°C'de 3 saat süreyle damıtılmıştır (Marotti ve Piccaglia, 1992).

Her türe ait uçucu yağ örneklerinin bileşenleri GC - MS (Perkin Elmer marka) cihazında (QP-5050 GC/MS, Quadrapole detektörlü) belirlenmiştir (Stein, 1990). Bu amaçla; n-hekzan seyreltilerek 1 µl kadar uçucu yağ silika kapiler kolona enjekte edilerek ve belirli bir çalışma programında (enjektör sıcaklığı 250°C'de ve detektör sıcaklığı 240°C'de tutularak, kolon/ fırın sıcaklığı ise (120°C/3 dak.// 3°C/dak.//200 °C/6 dak.// 3°C/dak.//120°C/3 dak.) komponentlerine ayrılarak ve her bir komponent daha önce tanımlanmış olan uçucu yağ standart piklerinden oluşan kromatogramlar aracılığı tanımlanmıştır. Her bir komponentin oranı ise integratör kullanılarak elde edilmiştir (Stein, 1990). Uçucu yağların ana bileşenleri Çizelge 1 de verilmiştir.

2.3. Kök lezyon nematodlarının kitle üretimi ve inokulumunun hazırlanması

Kök lezyon nematodlarının kitle üretiminde havuç disk yönteminden yararlanılmıştır (Zuckerman ve ark., 1985). Taze ve hasarsız olan havuçlar seçilerek yıkanmış ve 5 dakika alkol içerisinde tutulmuştur. Daha sonra, steril kabinde soyulup yeniden alkol içerisine daldırılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Havuçlar 1 cm kalınlığında kesilerek 6 cm çapında steril petrilere alınmış ve etrafi parafilm ile kaplanmıştır. Steril kabin içerisinde 3 gün bekletilmiş ve temiz olanlar kitle üretim için kullanılmıştır. Canlı kök lezyon nematodları stereo mikroskop altında seçilerek saf su içeren bir petriye alındıktan sonra yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla nematodlar % 1'lik Streptomycin sülfat çözeltisi ve penicilin içerisinde 10 dakika bekletilmiş ve sonra üç kez steril saf su ile yıkanmıştır. Steril kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu yapılan nematodlardan 10-15 birey alınarak havuç kültürünün bulunduğu petriye aktarılmıştır. Bulaşmayı engellemek için parafilm ile kapatılmış ve 19-21°C'de soğutmalı inkübatör içerisine yerleştirilmiştir. Yaklaşık 3 ayda nematodların istenilen yoğunluğa ulaştığı görülmüştür.

Denemeler için havuç kültürlerinden nematodları elde etmek amacıyla 12 cm çapında petrilere aktarılan havuç kültürü ince parçalar halinde kesilerek nematodların suya geçmesini sağlamak amacıyla üzerine yeterli miktarda steril saf su konulmuş ve 4-6 saat bekletilmiştir. Suya geçen nematodlar 38 µm ve 20 µm delik çapına sahip olan eleklerden geçirilerek santrifüj tüplerine alınmıştır. Bu şekilde kitle üretimi yapılan nematodlardan ışık mikroskobu altında sayımlar yapılarak 100 larva+ergin yoğunlukta olacak şekilde tüpler hazırlanmış ve inokulasyona hazır hale getirilmiştir.

2.4. Uçucu yağların Kök lezyon nematodlarına karşı nematisidal etkilerinin belirlenmesi

Çalışmada uçucu yağların nematisidal etkileri *Pratylenchus thornei*, *P. penetrans* ve *P. neglectus* larva+ergin bireylerinin hareket ve canlılığına dayanılarak *in vitro* koşullarda 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Her bir mikrotüp (1.5 ml) içine otomatik pipet yardımıyla 50 µl saf su ile birlikte 100 kök lezyon nematodu larva+ergin konulduktan sonra 1000 ppm konsantrasyonda olacak şekilde (Oka ve ark., 2000) uçucu yağ uygulamaları yapılmıştır. Uygulama tüp içerisindeki 50 µl nematodlu su dahil konsantrasyon 1000 ppm olacak şekilde ayarlanmıştır. Her bir uçucu yağın 1000 ppm konsantrasyonu Tween-80 (% 0.1) ve saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Her bir tüp içerisine 950 µl uçucu yağ solüsyonu mikropipet yardımıyla konulmuştur. Çalışmada saf su ve Tween-80 uygulanan mikro tüpler kontrol olarak değerlendirilmiştir. Mikro tüpler parafilm ile kapatıldıktan sonra 25±1°C'de tutularak 3 gün sonra mikroskop altında canlı-ölü birey sayımı yapılmış ve yüzde ölüm değerleri hesaplanmıştır (Oka ve ark., 2000).

Ölçüm ve analizler sonucu elde edilen veriler Tesadüf parselleri deneme planında faktöriyel düzenlemeye göre SAS (2009) istatistik paket programında GLM prosedürü kullanılarak standart varyans analizi tekniğinde (ANOVA) analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

3. Bulgular

Çalışmada uçucu yağlar, nematod türleri ve uçucu yağ x nematod interaksiyonu istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur (p<0.01) (Çizelge 2).

Çizelge 2. Uçucu yağ uygulamalarının Kök lezyon nematodlarında ölüm oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değerleri
Uçucu yağlar (U)	13	2957	594.4**
Nematod türleri (N)	2	687	137.4**
U X N	26	558	111.6**
Hata	84	5.00	

** İstatiksel olarak P<0.01 düzeyinde önemlidir.

Pratylenchus neglectus türünde en yüksek nematisidal aktivite istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer alan *Coriondrum sativum* (% 64.7) ve *Foeniculum vulgare* (% 63.3) uçucu yağlarından tespit edilmiştir (Çizelge 3). *Heracleum platytaenium*, *Kundmannia anatolica* ve *Ferulago pauciradiata* türlerinin uçucu yağları mevcut *P. neglectus* popülasyonunun yaklaşık olarak % 50 sinde nematisidal etki göstermiştir (Çizelge 3). *Pratylenchus neglectus* üzerinde *Pimpinella anisum*, *Smyrniium connatum*, *Angelica sylvestris*, *Ferulago cassia*, *Daucus carota*, *Scandix iberica* ve *Anethum graveolens* türlerinin uçucu yağları diğer uçucu yağlara göre daha düşük nematisidal etkiye sahip olmuştur (Çizelge 3). Saf su uygulamalarında meydana gelen ölümlerin nematodların aç kalma ihtimalinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Saf suya karşı Tween-80'de meydana gelen ölümlerin fazla olduğu görülmektedir. Bunun Tween-80'nin doku yüzeylerini yumuşatarak hücre içerisindeki sıvı dengesinin bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Çizelge 3). Kontrole kıyasla *P. penetrans* türünde popülasyonun % 50 den fazlasının ölümüne neden olan uçucu yağlar *F. vulgare*, *A. graveolens*, *A. sylvestris*, *H. platytaenium*, *C. sativum* ve *S. connatum* tespit edilmiştir (Çizelge 3). *Pratylenchus penetrans* türünde nematisidal etkisi % 30'un altında olan tek uçucu yağ *K. anatolica* olarak saptanmıştır (Çizelge 3). *Pratylenchus thornei* popülasyonunun % 70 den fazlasını öldüren 3 uçucu yağ *F. cassia* (% 85.0), *A. sylvestris* (% 78.0) ve *C. sativum* (% 75.0) olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Bunun yanısıra *K. anatolica* (% 61.7), *S. connatum* (% 50.0) ve *P. anisum* (% 50.3) uçucu yağlarının *P. thornei* popülasyonunun yarısına yakın bir kısmı üzerinde nematisidal etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 3). *Ferulago pauciradiata*, *F. vulgare*, *D. carota*, *A. graveolens*, *S. iberica* ve *H. platytaenium* türlerine ait uçucu yağlar kontrol gruplarına göre *P. thornei* üzerinde nematisidal etki göstermesine karşılık araştırmada kullanılan diğer uçucu yağlardan daha düşük nematisidal etkiye sahip olmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan uçucu yağların Kök lezyon nematodlarında (*P. neglectus*, *P. penetrans* ve *P. thornei*) ölüm oranları (%)

Uçucu yağlar	Ölüm Oranı (%)		
	<i>P. neglectus</i>	<i>P. penetrans</i>	<i>P. thornei</i>
CS	64.7 a B	57.0 c C	75.0 b A
AS	37.7 d C	63.7 b B	78.0 b A
FC	36.0 d C	51.7 d B	85.0 a A
FV	63.3 a B	69.0 a A	33.7 f C
HP	54.0 b A	58.3 c A	35.3 f B
SC	41.3 c B	51.3 d A	50.0 d A
AG	24.3 f C	66.7 ab A	47.3 de B
PA	42.3 c B	45.3 e AB	50.3 d A
KA	52.7 b B	23.7 h C	61.7 c A
FP	52.0 b A	39.3 f B	44.0 e B
DC	31.7 e C	36.7 fg B	46.3 de A
SI	26.0 f B	34.0 g A	33.7 f A
TW	8.3 g A	9.0 i A	5.3 g B
SAFSU	3.0 h AB	2.0 j B	3.7 g A
Lsd _{uxn}	3.63		

Küçük harflerle yapılmış olan gruplandırma nematodxuçucu yağ, Büyük harfler ile yapılan gruplandırma ise uçucu yağ x nematod interaksiyonuna aittir.

4. Tartışma ve Sonuç

Uçucu yağların nematosisal etkileri Kök lezyon nematodu türüne bağlı olarak değişiklik göstermiştir ve ölüm oranları *Pratylenchus neglectus* türünde % 24.3-64.7, *P. penetrans* türünde % 23.7-66.7 ve *P. thornei* türünde % 33.7-85.0 arasında değişim göstermiştir. *Pratylenchus thornei* türünün diğer nematod türlerine oranla uçucu yağ uygulamalarına karşı daha yüksek hassasiyet gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 3). Bu durum Kök lezyon nematodu türlerinin üreme şekli ve üreme gücü farklılığından kaynaklanabilir. *Pratylenchus* türlerinin çoğunda parthenogenesis yoluyla üreme görülürken, *P. penetrans* türünde seksüel üreme görülmektedir (Castillo ve Vovlas, 2007). Ayrıca daha önce yürütülen çalışmalarda aynı türün popülasyonları arasında bile patojenite açısından biyolojik çeşitliliğin olduğu *P. brachyurus* (Payan ve Dickson, 1990), *P. goodeyi* ve *P. penetrans* (Hafez ve ark., 1999) ve *P. vulnus* (Pinochet ve ark., 1994) türlerinde bildirilmektedir. Bu duruma örneklerin alındığı coğrafik alanlar ve bu alanlardaki toprak yapısı, bitki faktörleri vs. gibi farklılıkların etkili olduğu ve patojenitenin değişebildiği belirtilmektedir (Mudiope ve ark., 2004). Nematod türlerinin kütikula geçirgenliğinin uçucu yağ bileşiklerinin penetrasyonunu etkilediği ve nematod türleri arasındaki biyokimyasal farklılıkların bu bileşiklerin detoksifikasyonuna ya da bozulmasına neden olarak uçucu yağ bileşenlerinin nematosisal aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Tsoo ve Yu, 2000).

Çalışmada *Coriandrum sativum*'un nematosisal etkisi 3 Kök lezyon nematodu türünde % 50'nin üzerinde saptanmıştır (Çizelge 3). Bu linalool bileşiğinin tek başına etkisinden olabileceği gibi uçucu yağ içerisindeki diğer bileşenlerle olan sinerjistik etkiden de kaynaklanabilir (Çizelge 1). Daha önce yürütülen çalışmalarda *C. sativum* uçucu yağının *Bursephelenchus xylophilus* Steiner & Bührer 1934, Nickle, 1970 ve *Meloidogyne javanica* nematodları üzerinde nematoksik etkisi olduğu tespit edilmiştir (Kong ve ark., 2006; Kim ve ark., 2008; Siddiqui ve Zaki, 2017). Ayrıca methone ve linalool bileşiklerinin *M. javanica*, *M. incognita* ve *B. xylophilus* nematodlarına karşı etkili olduğu bildirilmektedir (Oka ve ark., 2000; Ibrahim ve ark., 2006; Barbosa ve ark., 2010). Liang ve ark. (2020), *Elsholtzia fruticosa* üst aksamından elde ettikleri uçucu yağın 3 ana bileşeni olan limonen, okaliptol ve terpinenin *Ditylenchus destructor* nematodu üzerinde nematosisal etkisi olduğunu saptamışlardır.

Angelica sylvestris uçucu yağının ise *Pratylenchus penetrans* ve *P. thornei* üzerinde nematosisal etkisi % 60'dan yüksek bulunmuştur (Çizelge 3). Bu uçucu yağın daha önce *in vitro* da *Meloidogyne incognita* üzerinde yürütülen çalışmada da yüksek nematosisal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Göze Özdemir ve ark., 2017).

Çalışmada etkisi yüksek bulunan *Ferulago cassia* ve *Foeniculum vulgare* uçucu yağlarının ortak bileşenlerinin ise limonen olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Citral, geraniol ve limonenin toprak uygulamalarının *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* ve *Heterodera schachtii* bitki paraziti nematodlarının çoğalmasını engellediği daha önce araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Osman ve Viglierchio, 1988; Viglierchio, 1989; Bauske ve ark., 1994). Duschatzky ve ark. (2004), *Aloysia triphylla* bitkisinden elde edilen uçucu yağın kök-ur nematodu larvalarının % 80 den fazlasını öldürdüğünü ve uçucu yağdaki ana bileşeni limonene olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca *F. vulgare* uçucu yağının *P. brachyurus* ve *M. javanica* üzerinde yüksek nematosisal aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (Oka ve ark., 2000; Calvet ve ark., 2001; Ntalli ve ark., 2011; Marie ve ark., 2015).

Çalışmada ele alınan uçucu yağlardan seskiterpenoid bakımdan zengin olan *S. conatum* ve *D. carota*'nın, monoterpenoidler bakımdan zengin olan *F. vulgare*, *F. cassia*, *C. sativum*, *A. sylvestris* ve *A. graveolens* uçucu yağlarından daha düşük nematosisal etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada pinene içeriği bakımından yüksek olan *K. anatolica* 'nın nematosisal etkisinin nematod tür bazında değiştiği ve diğer monoterpen içeren türlere oranla nematosisal etkisinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu durum uçucu yağın içermiş olduğu diğer bileşenlerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanmış olabilir. Monoterpenler ve fenilpropenler, seskiterpen ve alkollere kıyaslandığında asetilkolinesteraz aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisi ile güçlü bir nematosisal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2001; El-Habashy ve ark., 2020). Monoterpenoid grubunda yer alan α -pinene, α -terpinene ve eugenol bileşiklerinin asetilkolinesteraz aktivitesinin önemli ölçüde inhibe edilmesine neden olduğu belirtilmektedir (Saad ve ark., 2018). İkiyüz elli mg/ml konsantrasyonunda monoterpenoid grubundaki çoğu bileşiğin *P. penetrans* üzerine ticari nematosisit Oxamyl' den daha fazla toksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Tsoo ve Yu, 2000).

Bu çalışma nematoidal etkinin, aktif bileşenlerin türü ve içeriğine bağlı olarak nematod türleri içerisinde değiştiğini ve monoterpenlerin Kök lezyon nematodlarına karşı potansiyel doğal nematosit kaynağı olduğunu göstermiştir. Linalool ve limonen bileşiklerini içeren uçucu yağların ise nematoidal etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum bu bileşenlerin uçucu yağlar içerisindeki diğer bileşenlerle sinerjistik etkisinden de kaynaklanabilmektedir. Sonuç olarak, *Coriandrum sativum*, *Angelica sylvestris*, *Ferulago cassia* ve *Foeniculum vulgare* uçucu yağlarının Kök lezyon nematodları ile mücadelede doğal nematosit olarak kullanılabilceği, bununla birlikte daha gerçekçi sonuçlara ulaşabilmek için bu uçucu yağların farklı konsantrasyonlarda arazi koşullarında denenerek performanslarının ve bitki gelişimine etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan uçucu yağlar TÜBİTAK 113O284 nolu projeden temin edilmiştir. TÜBİTAK 113O284 nolu projeye desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynakça

- Andres M., Gonzalez-Coloma A., Sanz J., Burillo J., & Sainz P. (2012). Nematicidal activity of essential oils: a review *Phytochemistry Review* DOI 10.1007/s11101-012-9263-3.
- Avato, P., Laquale, S., Argentieri, M. P., Lamiri, A., Radicci, V., & D'Addabbo, T. (2017). Nematicidal activity of essential oils from aromatic plants of Morocco. *Journal of pest science*, 90(2), 711-722.
- Barbosa P., Lima A. S., Vieira P., Dias L. S., Tinoco M. T., & Barroso J. G. (2010). Nematicidal activity of EOs and volatiles derived from portuguese aromatic flora against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *J Nematol* 42, 8-16.
- Bauske E. M., Rodríguez-Kabana R., Estau'n V., Kloepper J. W., & Robertson D. G. (1994). Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. *Nematropica*, 24, 143-50.
- Blair, B. L. & Stirling, G. R. (2007). The role of plant-parasitic nematodes in reducing yield of sugarcane in fine-textured soils in Queensland, Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47(5), 620-634.
- Calvet C., Pinochet J., Camprubi A., Estau'n V., & Rodríguez-kabana R. (2001). Evaluation of natural chemical compounds against root lesion and root knot nematodes and side effects on the infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 107, 601-605.
- Castillo P., & Vovlas N. (2007). *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. *Nematology Monographs and Perspectives* Volume 6.
- Cavanagh, H., & M., A. (2007). Antifungal activity of the volatile phase of essential oils: A brief review, *Nat. Prod. Commun*, 2, 1297-1302.
- Dorman, H., J., D., & Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- Duschatzky, C. B., Martinez, A. N., Almeida, N. V., & Bonivardo, S. L. (2004). Nematicidal activity of the essential oils of several Argentina plants against the root-knot nematode. *Journal of Essential Oil Research*, 16(6), 626-628.
- El-Habashy, D. E., Abdel Rasoul, M. A., & Abdelgaleil, S. A. M. (2020). Nematicidal activity of phytochemicals and their potential use for the control of *Meloidogyne javanica* infected eggplant in the greenhouse. *European Journal of Plant Pathology*. doi:10.1007/s10658-020-02079-6.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance journal*, 23(4), 213-226.
- Gupta A., Sharma S., & Naik S.N. (2011). Biopesticidal value of selected EOs against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *International Biodeterioration Biodegradation*, 65, 703-707.

- Hafez, S. L., Al-Rehıyayı, S., Thornton, M. & Sundararaj, P. (1999). Differentiation of two geographically isolated populations of *Pratylenchus neglectus* based on their parasitism of potato and interaction with *Verticillium dahliae*. *Nematropica* 29, 25-36.
- Jones, M. G. K. & Fosu-Nyarko, J. (2014). Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. *Annals of applied biology*, 164(2), 163-181.
- Kim, S. S., Baik, J. S., Oh, T. H., Yoon, W. J., Lee, N. H., & Hyun, C. G. (2008). Biological activities of Korean Citrus obovoides and Citrus natsudaidai essential oils against acne-inducing bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 72, 2507–2513
- Kong J., Lee S., Moon Y., Lee S., & Ahn Y. (2006). Nematicidal activity of plant EOs against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: aphelenchoididae). *Journal of Asia Pacific Entomology*, 9, 173–178.
- Lang, G., & Buchbauer, G. (2012). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals, *Flavour Fragr. J.*, 27, 13–39.
- Lee H. S., (2006). Mosquito larvicidal activity of aromatic medicinal plant oils against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22, 292-295.
- Liang, J. Y., Ning, A. Q., Lu, P. Y., Shao, Y. Z., Xu, J., Yang, Y. Y., & Wang, H. L. (2020). Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oil Extracted from the Aerial Part of *Elsholtzia fruticosa* against *Ditylenchus destructor*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(3), 575-582.
- Marotti M., & Piccaglia R. (1992). The Influence of Distillation Conditions on the Essential Oil Composition of Three Varieties of *Foeniculum vulgare* Mill. *Journal of Essential Oil Research*, 4, 569-576.
- Mudiope, J., Adipala, E., Coyne, D., & Sikora, R. (2004). Monoxenic culture of *Pratylenchus sudanensis* on carrot disks, with evidence of differences in reproductive rates between geographical isolates. *Nematology*, 6(4), 617-619.
- Ntalli N. G., Ferrari F., Giannakou I., & Menkissoglu-Spiroudi U. (2011). Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of EOs from seven plants indigenous to Greece. *Pest Management Science* 67, 341–351.
- Ntalli, N., G., Ferrari, F., Giannakou, I., & Menkissoglu-Spiroudi, U. (2010). Phytochemistry and nematicidal activity of the essential oils from 8 Greek Lamiaceae aromatic plants and 13 terpene components, *J. Agric. Food Chem.*, 58, 7856–7863.
- Oka Y., Nacar S., Putievsky E., Ravid U., Yaniv Z., & Spiegel Y. (2000). Nematicidal activity of EOs and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology*, 90, 710–715.
- Osman A.A., & Viglierchio D.R. (1988). Efficacy of biologically active agents as non traditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. *Review of Nematology*, 11, 93–98.
- Payan, L. A., & Dickson, D. W. (1990). Comparison of populations of *Pratylenchus brachyurus* based on isozyme phenotypes. *Journal of Nematology*, 22(4), 538.
- Pinochet, P., Cenis, J. L., Fernandez, C., Doucet, M., & Maruli, J. (1994). Reproductive fitness and random amplified polymorphic DNA variation among isolates of *Pratylenchus vulnus*. *Journal of Nematology*, 26(3), 271.
- Renco M., & Balezentiene L. (2015). An analysis of soil free-living and plant-parasitic nematode communities in three habitats invaded by *Heracleum sosnowskyi* in central. *Biol Invasions*, 17, 1025–1039.
- Saad, M. M. G., Abou-Taleb, H. K., & Abdelgaleil, S. A. M. (2018). Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Applied Entomology and Zoology*, 53(2), 173–181.
- Siddiqui A., & Zaki M. J. (2017). Efficacy of some seeds of family apiaceae against root knot nematode, *Meloidogyne javanica* (treub) chitwood. *International Journal of Biology and Biotechnology*, 14 (1), 89-94.
- Smiley R.W., & Nicol J. M., (2009). *Nematodes Which Challenge Global Wheat Production*. In: Carver B.F. (ed.) *Wheat science and trade*, Wiley-Blackwell, pp. 171–187.
- Söğüt M. A., & Devran Z. (2011). Distribution and molecular identification of root lesion nematodes in temperate fruit orchards of Turkey. *Nematropica*, 41, 91-99.

- Stein S. E., 1990. National Institute of Standards and Technology (NIST) Mass Spectral Database and Software, Version 3.02, Juen USA.
- Tsao R., & Yu Q. (2000). Nematicidal Activity of Monoterpenoid Compounds against Economically Important Nematodes in Agriculture. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 3, 350-354.
- Viglierchio D.R., & Wu F.F., 1989. Selected biological inhibitors for *Heterodera schachtii* control. *Nematropica*, 19, 75-79.
- Zuckerman B. M., Mai W. F., & Harrison M. B. (1985). Plant Nematology Laboratory Manual. The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherst, Massachusetts 01003, Pp: 212



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)

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



Araştırma Makalesi (Research Article)

Bazı Yonca Çeşitlerinde (*Medicago sativa* L.) Biçim Zamanının Ot Verimi ve Kalitesi Üzerine Etkilerinin Saptanması**

Gürsel GÖKKAYA¹, Adnan ORAK^{2*}

¹T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, 06400 Ankara, Türkiye

²T.C. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 59030 Tekirdağ, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-8215-9124> ²<https://orcid.org/0000-0001-6588-8563>

*Sorumlu yazar e-posta: aorak@nku.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 16.08.2020

Kabul: 22.04.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.781018

Anahtar kelimeler

ADF,

Biçim dönemi,

Ham protein oranı,

NDF,

Yeşil ot verimi,

Yonca.

Öz: Bu araştırma, farklı dönemlerde biçilen bazı yonca (*Medicago sativa* L.) çeşitlerinin ot verimi, verim özellikleri ve kalite değerlerini belirlemek amacıyla 2016-2018 yıllarında iki yıl süre ile Tekirdağ'da susuz koşullarda yürütülmüştür. Araştırma tesadüf blokları desenine göre faktöriyel düzende 3 tekrarlamalı olarak kurulmuş ve denemede Gözlu-1, Bilensoy 80, Prosementi, Plato ve Verko olmak üzere 5 farklı yonca çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Ot hasadı iki farklı (%10 ve %50 çiçeklenme) dönemde yapılmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ile yıllar arasındaki farklar önemli bulunmuş ve ayrı ayrı incelenmiştir. İlk ve ikinci yıl ortalama değerlerine göre yonca çeşitlerinde bitki boyu değerlerinin 74.99 cm ile 46.98 cm aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. En yüksek yeşil ot verimi 4188.98 kg/da ile Gözlu-1, en düşük verim ise (3543.71 kg/da) ile Bilensoy 80 çeşidinde belirlenmiştir. Biçim zamanlarına bağlı olarak yeşil ot verimi farklılık göstermiştir. Yonca çeşitleri %50 çiçeklenme döneminde (4353.24 kg/da) %10 çiçeklenme dönemine göre (3190.67 kg/da) daha fazla ot verimine sahip olmuştur. Kalite analizlerinde % 10 ve % 50 çiçeklenme zamanında yapılan biçimlerde protein oranı 1. yıl % 21.80-21.36, ikinci yıl % 22.73-20.98; ADF oranı 1.yıl % 40.15-42.47, 2. Yıl % 39.60-43.25; NDF oranı 1. yıl %40.96-43.00, 2.yıl %39.95-47.22; NYD 1. yıl 124.78-127.43, 2.yıl %108.72-138.83 olarak bulunmuştur.

Determination of The Effects of Cutting Time on Forage Yield and Quality in Some Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties

Article Info

Received: 16.08.2020

Accepted: 22.04.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.781018

Keywords

ADF,

Harvest stage,

Crude protein ratio,

NDF,

Fresh forage yield,

Alfalfa.

Abstract: This study was conducted to determine effect of harvest times on yield and yield components of alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties in Tekirdağ conditions without irrigation between 2016–2018. The study was carried out in randomized block design with three replications. Gözlu-1, Bilensoy 80, Prosementi Bologna, Plato and Verko varieties was used as material, plants were harvested in two different flowering stages (%10 and %50). In two years statistical results, the characters of the study has significant differences and first year has higher results more than second year. According to statistical analyses years has significant differences and years was examined separately. In two years results plant height varied between 74.99–46.98 cm. Highest fresh forage yield was determined from variety Gözlu-1 (4188.98 kg/da), lowest fresh forage yield was determined from variety Bilensoy-80 (3543.71 kg/da). Fresh forage yield varied belongs to harvest stage. Alfalfa varieties had higher fresh forage yield at

50% flowering period (4353.24 kg/da) compared to 10% flowering stage (3190.67 kg/da). According to forage quality analyses, protein content was determined between 21.80-21.36 % in first year and 22.73-20.98 % in second year at % 10 and %50 flowering harvest time. The ADF was determined 40.15-42.47 % in first year and 39.60-43.25 % in second year; the NDF was determined 40.96-43.00 % in first year and 39.95-47.22 % in second year; the RFV was determined 124.78-127.43 % in first year and 108.72-138.83 % in second year at same harvest times.

**Bu çalışma Gürsel Gökkaya'nın yüksek lisans tezinin bir bölümünü kapsamaktadır.

1. Giriş

Yonca, ülkemizde yem bitkileri içerisinde en fazla ekim alanına sahip baklagil yem bitkisidir. 2019 yılı rakamlarına göre Türkiye'de yonca ekim alanı 641.213 ha'dır (TÜİK, 2020). Tarımda sürdürülebilir hayvancılığın temel bileşeni olarak kaliteli kaba yem üretimi için oldukça önemli bir bitki olup, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2019 yılı verilerine göre toplam yem bitkileri ekim alanının yaklaşık % 30.76'sını, yeşil yem üretiminin ise % 32.45'ini oluşturmaktadır. Trakya bölgesi 2.4 milyon ha yüz ölçümü, 1.2 milyon ha işlenebilir verimli arazi varlığı ile önemli bir bölgemizdir. Büyük baş hayvan varlığının neredeyse tamamının kültür ve melez ırk olduğu söylenebilir. Ancak kaba yem kaynakları konusunda sorunların yaşandığı bilinmektedir. Trakya bölgesinde ihtiyaç duyulan kaba yem, çayır mera ve yem bitkileri ekim alanlarının sınırlı olması nedeni ile karşılanamamaktadır. Bölge ölçeğinde değerlendirildiğinde yüzölçümün % 9.81'ini çayır ve mera alanları oluşturmaktadır. Bu oran ülke genelinde % 18.74'tür (TÜİK, 2020). Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illerinin mevcut hayvan varlığının (494.026 BBHB) ihtiyacı olan kaliteli kaba yem ihtiyacının 1.2 milyon ton olduğu ortaya çıkmaktadır (TÜİK, 2020). Çayır mera alanlarının sınırlı olması nedeni ile yem bitkileri üretimine ağırlık verilmesi zorunlu hale gelmiştir. Tek yıllık baklagil yem bitkileri yanında yüksek verim potansiyeline sahip çok yıllık baklagil yem bitkisi türleri de tercih edilmeye başlanmıştır. Yonca verim potansiyeli ve adaptasyon yeteneğinin yüksek olması nedeni ile öne çıkmıştır. İslah edilen yonca çeşitlerinin yoğunluğu konuya verilen önemi göstermektedir. Yapılan çalışmalarda yoncanın protein içeriği ve kalitesinin çeşitler arasında fazla değişim göstermediği, biçim zamanı, yıllık biçim sayısının önemli olduğu vurgulanmaktadır (Maurie`s, 2004; Orloff ve Putnam, 2007; Putnam ve ark., 2008; Veronesi ve ark., 2010).

Yonca bal üretiminde önemli kaynak olması, biyolojik çeşitliliği koruması ve tohum verimini artırması nedeni ile önemlidir (Duke, 1983). Ayrıca köklerindeki bakteriler aracılığı ile havanın serbest azotunu toprağa kazandırması ile toprak organik maddesinin zenginleşmesine yardımcı olmaktadır. Yonca sulu koşullarda çok kez biçilebilen ve yüksek ot verimine sahip olması yanında, kuru şartlarda yetiştirildiğinde su kullanım etkinliği yüksek bir bitkidir (Undersander ve ark., 2011; Orloff ve ark., 2015). Derine giden kökleri ile kurağa ve yüksek sıcaklığa toleranslıdır. Toprak reaksiyonu (pH) 6.5-7.5 olan topraklarda iyi gelişmekte ve tuzluluğa kısmen tolerans göstermektedir. Farklı iklim koşullarında sulanmadan üç veya dört kez biçilmektedir. Yoncada yüksek verim 2. veya 3. yılda alınmaktadır.

Yapılan araştırmalarda; Chen ve ark. (2013), Kuzey Çin-Songnen ovasında yoncada en uygun biçim aralığını (30, 40, 60 gün) belirlemek amacı ile 2 yıl süre ile yürüttükleri çalışmada; biçim aralığının (30, 40, 60 gün) artması ile bitki boyunun her iki yılda da; sırası ile 52.5-51.3 cm, 65.66 cm ve 75.6-76.6 cm arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Ankara ve Isparta'da sulanan koşullarda yürütülen araştırmada (Yüksel ve ark., 2016) 1 aday, 5 tescil edilmiş yonca çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Bitki boyunun Ankara lokasyonunda 48.00-73.38 cm, Isparta lokasyonunda ise 60.88-75.75 cm arasında değiştiği bildirilmiştir. Ankara koşullarında sulu koşullarda 2 yıl süre ile yürütülen başka bir araştırmada ise yonca; 5 farklı zamanda (Vejetatif, tomurcuklanma, %10 çiçeklenme ve çiçeklenme dönemi sonu ve bakla bağlama) biçilmiş ve sırası ile 34.0, 41.4, 57.3, 81.9 ve 83.1 cm boy ölçümleri belirlenmiştir. Bu araştırmada biçim zamanının gecikmesi ile bitki boyunun yükseldiği saptanmıştır (Mutlu, 2019). Altınok ve Karakaya (2002), Ankara ekolojisinde susuz koşullarında 3 yıl süre ile yürüttükleri araştırmada %10-20 çiçeklenme döneminde biçtikleri yoncanın yeşil ot veriminin birinci yıl 1869 kg/da, ikinci yıl 4071 kg/da üçüncü yıl ise 3839 kg/da olduğunu belirlemişlerdir. Yine Ankara koşullarında yürütülen araştırmada, farklı biçim zamanlarının (Vejetatif, tomurcuklanma, %10

çiçeklenme ve çiçeklenme dönemi sonu ve bakla bağlama) yonca otunun verim ve kalite özelliklerine olan etkisi araştırılmış, yeşil ot veriminin biçim dönemlerine bağlı olarak sırası ile 2892.5, 3460.8, 4129.7, 4732.2, 4275.7 kg/da; olduğu, en yüksek verimin çiçeklenme dönemi sonunda alındığı saptanmıştır (Mutlu 2019). Weir ve ark. (1960), farklı gelişme dönemlerinde yapılan biçimin yoncanın verim, kalite ve dayanıklılığını belirlemek için yürüttükleri çalışmada, biçimleri 3 yıl süreyle tomurcuklanma öncesi, tomurcuklanma, %10 çiçeklenme ve %50 çiçeklenme zamanında yapmışlar. Deneme sonucunda, en yüksek toplam kuru madde veriminin, %50 çiçeklenme zamanında biçilen yonca parselinden alındığı, en yüksek protein ve sindirilebilir besin maddesi veriminin ise %10 çiçeklenmede belirlemişlerdir. Kıraç koşullarda yürütülen çalışmalarda yoncadan 1-2 biçim ve 200-250 kg/da kuru ot verimi aldığı belirtilmektedir (Açıkgöz, 2001). Ankara kıraç koşullarında 7 farklı yonca çeşidi ile yürüttüğü çalışmada (Altınok ve Karakaya, 2002) %10-20 çiçeklenme döneminde yapılan biçimde kuru madde veriminin birinci yıl 651 kg/da, ikinci yıl 1297 kg/da, üçüncü yıl ise 1226 kg/da olduğunu saptamışlardır. Haymana'da (Ankara) sulu koşullarda yapılan çalışmada; en yüksek kuru ot veriminin 1004.60 kg/da ile Gözlü çeşidinde, en düşük ise 830.40 kg/da ile Elçi çeşidinde olduğu belirlenmiştir. En uygun biçim zamanının belirlenmesi amacı ile yürütülen çalışmada; en yüksek kuru ot verimi 1227.10 kg/da ile tam çiçeklenme döneminde, en düşük ise 605.80 kg/da ile vejetatif dönemde elde edilmiştir (Mutlu, 2019).

Yonca otunun kaliteli olması için, protein oranının yüksek olması arzu edilmektedir. Yonca kuru otunun kaitesini etkileyen faktörlerin başında hasat zamanı gelmektedir (Açıkgöz ve Demirel, 2021). Weir ve ark. (1960) farklı dönemlerde biçilen (Tomurcuklanma öncesi, %10 çiçeklenme, %50 çiçeklenme dönemi) yoncanın yüksek protein ve sindirilebilir besin maddesinin %10 çiçeklenme döneminde, en yüksek protein oranının ise tomurcuklanma döneminde alındığını belirlemişlerdir. Biçim sıklığının yonca otunun protein oranına etkisinin araştırıldığı çalışmada 25, 30, 35 ve 40 gün biçim aralıklarında, ham protein oranının, %25.5, 26.6, 27.5, 28.2 değişim gösterdiğini bildirmiştir (Probst, 2008). Chen ve ark. (2013), Kuzey Çin-Songnen ovasında yoncada en uygun biçim aralığını (30, 40, 60 gün) belirlemek amacı ile 2 yıl süre ile yürüttükleri çalışmada; en yüksek ot verimi ve kalitesine 40 gün ara ile yapılan biçimlerde ulaşıldığını bildirmişlerdir. Ayrıca; protein oranının ilk yılda olduğu gibi (30 gün, % 25; 40 gün, %22.56; 60 gün, %18.42), *ikinci yılda da (30 gün, %25.33; 40 gün, %22.70; 60 gün, %18,62) biçim zamanı geciktikçe protein oranının azaldığını saptamışlardır*. Başka bir çalışmada Mala ve Fadlalla (2013), İlk biçimden itibaren 7 gün sonra başlayarak sonraki biçim başlayana kadar (21-30 gün) devam eden süreçte, 3 günde bir yaptıkları biçimde alınan örneklerin protein oranının % 26'dan % 17'ye gerilediğini belirlemişlerdir. Sırbistan'da yürütülen çalışmada Milic ve ark. (2014) 2010-2011 yıllarında iki farklı lokasyonda 5 yonca çeşidiyle yaptıkları denemede, kaliteli en yüksek ot veriminin yılda dört (geç çiçeklenme döneminde) ile beş (erken çiçeklenme döneminde) kez yapılan biçimde olduğunu belirlemişlerdir. Yılda üç kez yapılan biçimde verimin düştüğünü, çeşitlerin genetik potansiyelleri ile çevre koşullarını tam olarak değerlendiremediklerini ortaya koymuşlardır. Doohong (2016), yoncada yüksek verim ve kaliteli ot üretimi için biçim aralığının önemli olduğunu, bu amaçla yürüttükleri çalışmada 28, 35, 42 ve 49 gün ara ile yaptıkları biçimlerde, ham protein oranının hasadın gecikmesi ile azaldığını (ilk yıl % 29.7-26.0-25.9-23.9; ikinci yıl % 30.5-27.9-22.8-22.2) bildirmiştir. Mutlu (2019) yonca otunun protein oranının vejetatif dönemde % 25.5, tomurcuklanma döneminde % 25.0, % 10 çiçeklenme döneminde % 24, tam çiçeklenme döneminde % 23.2, meyve bağlama döneminde ise % 22.6 olduğunu, en uygun biçim zamanının tam çiçeklenme döneminde olduğu belirtilmiştir. Ancak biçimin % 50 çiçeklenme döneminde yapılması ile daha kaliteli ot elde edileceğini vurgulamıştır.

NDF oranı hücre duvarının ne kadarının sindirilebileceğini belirleyen önemli bir kalite indikatörüdür (Marsalis ve ark., 2009) ve NDF'yi oluşturan selüloz, hemiselüloz ve ligninin ruminantlar tarafından sindirimi oldukça zordur (Mertens, 2011). Yüksek kaliteli yonca otu üretimi için NDF içeriğinin % 40'ın, ADF içeriğinin ise % 31'in altında olması gerekmektedir (Redfearn ve Zhang, 2011; Kazemi ve ark., 2012). Yoncanın tam çiçeklenme döneminde sınır değerlerin NDF içeriğinde % 53, ADF içeriğinde ise %41 olduğunu açıklayan Dunham (1998), yüksek sindirilebilirlik için bunun önemli olduğunu belirtmiştir. Katić ve ark., (2009), NDF ve ADF içerikleri bakımından çeşitler arasındaki farkın yonca çeşitlerinin sahip olduğu genetik yapıdan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Probst (2008) 2006-2007 yıllarında iki lokasyonda 5 yonca çeşidiyle, dört farklı biçim sıklığının (25, 30, 35, 40 gün) yoncanın NDF oranına etkisinin araştırıldığı çalışmada % 37.6, 38.0, 38.0, 39.3 oranları belirlenmiştir. Yoncanın ot verimi ve kalitesini belirlemek amacı ile Çin'de yapılan

bir araştırmada (Chen ve ark., 2013) en düşük NDF oranının 30 gün ara ile yapılan biçimlerde alındığını 40 ve 60 gün ara ile yapılan biçimlerin bunu izlediğini bildirmişlerdir. Doohong (2016), yoncanın 28, 35, 42 ve 49 gün aralıklarla yapılan biçimde ilk yıl NDF oranlarının % 27.7-30.4- 32.7-34.9, ikinci yıl ise % 33.3-34.2-44.1-45.5 değişime sahip olduğunu bildirmiştir. Mutlu (2019) Ankara koşullarında sulu koşullarda yürüttüğü çalışmasında; farklı yonca çeşitlerinin farklı dönemlerde hasat edilmesi ile elde edilen otun NDF oranının tomurcuklanma öncesinde (Vejetatif dönem) % 32.7, tomurcuklanma döneminde % 33.5, % 10 çiçeklenme döneminde % 34.1, tam çiçeklenme döneminde % 36.2, meyve bağlama döneminde ise % 35.6 olarak bildirmiştir.

Çin’de iki yıl süre ile yürüttüğü araştırmada Doohong (2016) yoncanın 28, 35, 42 ve 49 gün ara ile biçilmesinin ADF oranını artırdığını (ilk yıl % 21.5-24.0-25.5-27.7; ikinci yıl % 25.4-27.9-35.1-35.2) saptamıştır. Probst (2008), 2006-2007 yıllarında iki lokasyonda 5 yonca çeşidiyle yaptığı araştırmada, dört farklı biçim sıklığının (25, 30,35, 40 gün) yoncanın ADF oranına etkisinin araştırıldığı araştırmada % 25.5, 26.6, 27.5, 28.2 oranları belirlenmiştir. Ankara koşullarında sulu koşullarda yapılan çalışmada (Mutlu, 2019),; farklı yonca çeşitlerinin farklı dönemlerde hasat edilmesi ile elde edilen otun ADF oranının tomurcuklanma öncesinde (Vejetatif dönem) %47.1, tomurcuklanma döneminde % 47.8, %10 çiçeklenme döneminde % 48.3, tam çiçeklenme döneminde % 50.8, meyve bağlama döneminde ise % 50.3 olarak bildirmiştir. Yonca otunun kalitesinin belirlenmesi amacı ile geliştirilen nispi yem değerini (NYD) Probst (2008), 2006-2007 yıllarında iki lokasyonda 5 yonca çeşidiyle yaptığı araştırmada, dört farklı biçim sıklığının (25, 30,35, 40 gün) yoncanın NYD etkisini araştırdığı çalışmada 172.2, 167.4, 165.8, 159.1 olarak belirlemiştir. Çin’de yürütülen başka bir araştırmada ise (Doohong, 2016), yoncanın 28, 35, 42 ve 49 gün ara ile biçilmesinin nisbi yem değerini (ilk yıl 245-220-205-182; ikinci yıl 195-184-131-125) önemli düzeyde düşürdüğünü açıklamıştır. Ankara’da Haymana koşullarında yapılan araştırmada, yonca çeşitlerinin farklı dönemlerde hasat edilmesi ile elde edilen otun nisbi yem değerinin (NYD) tomurcuklanma öncesinde (Vejetatif dönem) 162.5, tomurcuklanma döneminde 160.9, % 10 çiçeklenme döneminde 157.5, tam çiçeklenme döneminde 145.4, meyve bağlama döneminde ise 147.2 olarak bildirilmiştir (Mutlu, 2019). Yonca ile ilgili yapılan araştırmalarda ele alınan karakterler ot kalitesinin belirlenmesinde önemli ve yol gösterici durumunda olduğu anlaşılmaktadır. Yonca dünyada ve ülkemizde kabayem kaynağı olarak yetiştirilen baklagil yem bitkilerinin başında gelmektedir. Hayvansal üretimde işletmelerin karlı olabilmesi için ihtiyaç duydukları kaba yemin en az % 60’ını kendi imkânları ile üretmeleri önerilmektedir. Son 50 yılda kültür ırkı ve melez hayvan üretim bölgesi olarak kabul edilen Trakya bölgesi verimli toprakları ve uygun iklimi nedeni ile buğday ve ayçiçeği tarımının yoğun olduğu, kuru tarım bölgesidir. Büyükbaş hayvan varlığının neredeyse tamamı yüksek verim potansiyeline sahip kültür ve melez ırklardan oluşmuştur. Mevcut hayvan varlığının ihtiyacı olan kaba yem bölge çayır mera alanları ile tarla tarımı içinde yer alan yem bitkileri üretiminden karşılanmaktadır. 1980’li yılların başından itibaren ekilmeye başlanan ve giderek artan ekim alanı ile Macar fiği yanında yem bezelyesi ve yaygın fiğ gibi türler ekim nöbetine girmiş ve üretici tarafından benimsenmiştir. Tarlayı bir yıl içinde terk eden ve 10 kg/da’a varan organik azotu toprağa bağlayan tek yıllık baklagiller tercih edilmiştir. Yakın zamanda hayvansal ürün fiyatlarındaki yükselişle birlikte verilen teşviklerin artması tarımla ilgisi olmayan sektörlerinde ilgisini çekmiştir. Bölgede besi ağırlıklı çiftlikler kurulmuş dolayısı ile kaba yem ihtiyacı artmıştır. Çayır mera alanlarının sınırlı olduğu bölgede yem bitkileri üretimine ilginin artması ile birlikte yonca ekimi de artmıştır. Son yıllarda Orta Anadolu’dan getirilen yonca otunun ticarete ciddi boyut kazanması ve yonca kuru otunun 1.3 TL’ye çıkması ile bölgede yonca otu üretimine ilgi ekim alanını da artırmıştır. Bölgede fazla sayıda yonca çeşidi tohumluk olarak satılmaya başlamıştır.

Bölgede baraj ve göletlere yakın arazilerde sulu, imkânı olmayan yerlerde ise kıraç koşullarda yoncadan yeterli ot verimi alınmaktadır. Kırklareli koşullarında sulu ve susuz koşullarda devam eden araştırmada susuz koşullardaki uygulamadan, yılda 5 tonu geçen yeşil ot verimi alındığı ve tahıl üretimi ile mukayese edilir duruma geldiği bilinmektedir. İklim değişikliği nedeni ile bölgedeki bahar yağışlarının 20 gün gecikme ile yağmaya başladığı konu uzmanları tarafından bildirilmektedir. Yağışın yoncanın biçim zamanına tesadüf ettiği dönemlerde ot hasadında gecikme yaşandığı bilinmektedir. Hasat zamanında yaşanan gecikmenin yoncanın verimi ve kalitesine etkisinin belirlenmesi amacı ile planlanan ve Tekirdağ susuz koşullarında yürütülen araştırmada Gözlü-1, Bilensoy-80, Verko, Prosementi ve Plato çeşitleri ekilmiş, iki farklı dönemde (% 10 ve % 50

çiçeklenme) hasat edilmiştir. Elde edilen otun verim ve kalite özellikleri (ham protein, NDF, ADF ve nispi yem değeri) araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilen Gözlü-1, Bilensoy-80, Verko, Prosementi ve Plato çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Deneme 2015-2016 yetiştirme mevsiminde Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma ve Deneme Alanı'nda kurulmuş, 2016-2017 ve 2017-2018 yetiştirme dönemlerinde alınan sonuçlar değerlendirilmiştir.

Araştırmanın yapıldığı alanın yetiştirme dönemlerindeki aylara ve uzun yıllara ait iklim değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Tekirdağ ilinin uzun yıllar iklim ortalamaları (1939-2018)

Aylar	Aylık Toplam Yağış (mm)	Oransal Nem (%)	Sıcaklık (°C)
KASIM	75.4	83.7	11.0
ARALIK	81.5	83.6	7.1
OCAK	68.8	84.1	4.7
ŞUBAT	54.1	82.1	5.4
MART	54.4	81.2	7.3
NİSAN	40.9	78.8	11.8
MAYIS	36.7	77.3	16.8
HAZİRAN	37.9	74.2	21.3
TEMMUZ	22.8	70.6	23.8
AĞUSTOS	13.3	71.2	23.8
EYLÜL	33.6	74.8	20.0
EKİM	62.4	81.5	15.4
Toplam	581.8		

(Anonim, 2018a).

Çizelge 2. Tekirdağ ili 2016-2018 yetiştirme dönemine ait iklim verileri

Aylar	Aylık Toplam Yağış (mm)		Oransal Nem (%)		Sıcaklık (°C)	
	2016-2017	2017-2018	2016-2017	2017-2018	2016-2017	2017-2018
KASIM	67.2	45.2	83.1	76.6	11.7	12.1
ARALIK	52.8	113.8	80.7	76.3	9.6	6.18
OCAK	107.0	67.6	84.5	85.6	1.9	6.6
ŞUBAT	38.8	93.7	81.8	86.1	6.4	7.3
MART	32.1	78.7	82.5	85.8	9.0	9.8
NİSAN	61.1	20.5	77.7	76.4	11.1	14.0
MAYIS	16.7	36.7	76.5	79.2	16.8	18.5
HAZİRAN	44.3	75.9	78.1	72.6	21.9	22.3
TEMMUZ	52.2	98.0	69.7	69.5	24.1	25.1
AĞUSTOS	16.6	0.0	66.7	63.1	25.1	26.0
EYLÜL	5.1	23.1	70.8	66.1	21.6	21.8
EKİM	59.8	48.2	77.3	75.9	15.0	16.7
Toplam	553.7	701.4				

(Anonim, 2018b).

Araştırmanın yürütüldüğü ilk yıl 553.7 mm, 2. yıl ise 701.4 mm yağış düşmüştür. İkinci yıl düşen yağışı kış dönemi ile yaz sonunda yoğunlaşmıştır. Oransal nem Haziran ve Temmuz ayı yağışları nedeni ile yükselmiştir. İkinci yıl Ocak ayı ilk yıla göre daha ılıman geçmiştir (2018b).

Deneme alanına ait toprakların analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge 3), Toprağın killi-tınlı yapıda, nötr pH' da olduğu, organik madde bakımından fakir, azot ve fosfor oranının düşük, potasyum açısından yüksek, kireç miktarının düşük, magnezyum, demir, bakır, çinko, mangan bakımından yeterli olduğu saptanmıştır.

Araştırmanın yapıldığı yetiştirme dönemlerinde deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tekirdağ Ticaret Borsası Toprak Analiz Laboratuvarında yapılmış (Anonim, 2018a) ve ilgili sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. Araştırma, tesadüf blokları deneme desenine göre

faktöriyel düzende 3 tekrarlamalı olarak susuz koşullarda ve gübre uygulanmadan yürütülmüştür. Araştırmada her parsel 20 cm aralığında 5 m uzunluğunda 6 sıradan oluşmuştur. Tohumlar 2 kg/da ekim normu sağlanacak şekilde 6 Kasım 2015 tarihinde her sıraya el ile ekilmiştir (Demiroğlu ve ark., 2008). Yabancı ot mücadelesi çapa ile yapılmıştır. Tesis yılında biçimler dikkate alınmamıştır.

Çizelge 3. Araştırma yeri toprağına ait fiziksel ve kimyasal özellikler

	Birim	2016-2017	2017-2018
pH		7.58	7.55
Tuz	%	0.02	0.02
Kireç	%	0.65	0.63
İşba		42	41
Organik Madde	%	1.71	1.63
Toplam Azot (N)	%	0.14	0.11
Fosfor (P)	(ppm)	8.92	8.40
Potasyum (K)	(ppm)	296.49	290.73
Kalsiyum (Ca)	(ppm)	3440.1	3571.4
Magnezyum (Mg)	(ppm)	117.31	116.48
Demir (Fe)	(ppm)	6.98	7.00
Bakır (Cu)	(ppm)	1.6	1.6
Çinko (Zn)	(ppm)	1	0.9
Mangan (Mn)	(ppm)	19.63	19.58

(Anonim, 2018c).

Çalışmada her yıl 3'er biçim yapılmıştır. Biçimler %10 Çiçeklenme ve %50 Çiçeklenme olmak üzere iki farklı dönemde yapılmıştır (Weir ve ark., 1960; Kalu ve Fick, 1983; Probst, 2008). Araştırmanın ilk yılında ilk biçim 30 Mayıs'ta son biçim ise 22 Eylül'de alınmıştır. İkinci yılda ise ilk biçim hava sıcaklığına bağlı olarak 22 Mayıs'ta, son biçim ise 2 Ekim'de yapılmıştır.

Araştırmada bitki boyu her biçimden önce her parselden rastgele seçilen 10 bitkide toprak yüzeyi ile sürgün ucunun üst noktası arasındaki mesafe mm bölmeli cetvel ile ölçülmüş, ortalaması cm olarak kaydedilmiştir (Saruhan ve Kuşvuran, 2011).

Parsel yeşil ot verimleri için sıra başı ve sonundan 0.5 cm'lik bölüm, hasat öncesi biçilerek deneme dışı bırakılmıştır. Kalan bölüm (4.8 m²) parsel hasat alanı olarak tamamı biçilmiş ve 0.01 g hassas terazide (Radwag) tartılarak parsel verimleri, sonrasında ise dekar verimleri belirlenmiştir.

Biçim yapıldıktan sonra her parselden rastgele alınan 0.5 kg'lık bitki örnekleri kurutma dolabında 70 °C'de 48 saat kurutulup, daha sonra 24 saat oda koşullarında sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletilmiştir (Akyıldız, 1968). Daha sonra kurutulmuş bitki örnekleri hassas terazi ile tartılmıştır.

Çalışmada kullanılan örnekler ham protein analizi için ilk olarak laboratuvar tipi değirmende (Seedburo, USA) 0.5 mm elek çapında öğütülmüştür. Öğütülen yonca otu örneklerden her tekerrür için 0.25 g örnek alınmış ve temiz ve özel kâğıtlara konularak mikro Kjeldahl yöntemi ile azot içerikleri belirlenmiştir. Belirlenen azot miktarı 6.25 ile çarpılarak ham protein oranları bulunmuştur (Akyıldız, 1984).

Yonca çeşitlerine ait ot örneklerinin NIR Spectroskopy (Spectrastar 2400 D, Unity Scientific, Amerika) cihazında 50 g numune, cihazın döner kap modülüne konulmuş ve NDF ve ADF oranları örneklerin 48 ayrı noktasından 1200-2400 nm arasında yapılan okuma ile belirlenmiştir. Her bir okuma 3 kez tekrarlanmıştır. Nispi yem değeri Rivera ve Parish (2010)'a göre belirlenmiştir.

2.1. İstatistiksel analizler

İstatistiksel hesaplamalar deneme planına uygun olarak TARİST paket programında (Açıkgöz ve ark., 1994) analiz edilmiş ve araştırmada incelenen özelliklerin ortalama değerleri arasındaki farkların istatistiksel anlamda önemlilikleri, MSTAT paket programı (Anonim, 1982) kullanılarak LSD testi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Bitki boyu (cm):

İki yıl devam eden ve % 10 ve % 50 çiçeklenme olmak üzere iki farklı biçim zamanında ve yılda üç kez biçilen yonca çeşitlerinin bitki boyu değerleri ile önemlilik grupları Çizelge 4 ve 5'te verilmiştir.

Çizelge 4. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin bitki boyu (cm) değerleri ve önemlilik grupları (2016-2017)

Çeşitler	Biçim Dönemi									%10 Çiçek Ort.	%50 Çiçek Ort.	Ort.
	1. Biçim			2. Biçim			3. Biçim					
	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.			
Gözlü-1	83.63	91.33	87.48	80.96	83.63	82.29	58.50	61.30	59.90	74.36	78.75	76.55ab
Bilensoy-80	74.40	95.67	85.03	90.60	74.40	82.50	54.20	50.96	52.58	73.06	73.67	73.37ab
Prosementi	81.43	83.67	82.55	93.53	81.43	87.48	60.86	49.96	55.41	78.60	71.68	75.14ab
Plato	70.63	77.00	73.81	90.40	70.53	80.46	54.86	49.96	52.42	71.96	65.83	68.89b
Verko	85.50	97.00	91.25	87.33	85.50	86.41	67.86	62.83	65.34	80.23	81.77	81.00a
Ort.	79.11b	88.93a	84.02a	88.56a	79.11b	83.83a	59.25c	55.00c	57.12b	75.64	74.34	74.99

LSD: biçim dönemi:6.241**; çeşit: 8.057**; biçim dönemi x biçim zamanı int: 8.771**.

2016-2017 yetiştirme döneminde araştırmanın ilk yılında (2016-2017), 5 farklı yonca çeşidi iki farklı zamanda (% 10 ve % 50) ve 3 kez biçilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi ile elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre; çeşitler arası fark, biçim dönemleri arası fark ile biçim dönemi x biçim zamanı etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4). Çeşitlerin bitki boyu değerleri incelendiğinde; Verko (81.00 cm) çeşidi ilk sırada yer alırken, Gözlü-1 (76.55 cm), Bilensoy-80 (73.37 cm) ve Prosementi (75.14 cm) çeşitleri ikinci grupta yer almıştır. Plato (68.89 cm) çeşidi ise son grupta yer almıştır (Çizelge 4). Araştırmanın ilk yılında (2016-2017) biçim dönemi açısından yapılan değerlendirmede; 1. biçim (84.02 cm) ve 2. biçimde (83.83 cm) belirlenen bitki boyu değerleri 3. biçimden (57.12 cm) yüksek bulunmuştur (Çizelge 4).

Biçim dönemi x biçim zamanı etkisinde; en fazla boylanmanın 1. biçimde % 50 çiçeklenme zamanında (88.93 cm) ve 2. biçimde % 10 çiçeklenme zamanında (88.56 cm) yapılan boy ölçümlerinde belirlenmiştir. En az boylanma ise 3. biçimde % 10 çiçeklenme zamanı (59.25 cm) ile % 10 çiçeklenme zamanında (55.00 cm) belirlenmiştir. İlk iki biçimde serin ve nemli koşullar nedeni ile yonca çeşitlerinin bitki boylarında artış saptanmıştır. 3. biçim döneminde yaşanan sıcaklık artışı ve gelişme döneminde düşen yağışın yetersizliği nedeni bitki boyunda yükselme olmamıştır (Çizelge 4).

Araştırmanın ikinci yılında yapılan boy ölçümlerinin değerlendirilmesi ile elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre; çeşitler arası fark, biçim dönemleri arası fark, biçim zamanları arası fark ile biçim dönemi x biçim zamanı etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Araştırmanın ikinci yılına (2017-2018) ait bitki boyu (cm) ortalama değerler ve önemlilik grupları Çizelge 5'te verilmiştir. Verko (52.12 cm) çeşidi ilk sırada yer alırken, Gözlü-1 (49.53 cm) ve Prosementi (47.08 cm) çeşitleri ikinci grupta yer almıştır. Plato (41.89 cm) ise en az boylanma çeşidi olmuştur.

Biçim dönemi açısından incelendiğinde; en fazla boylanmanın 1. biçimde (57.77 cm) olduğu, 2. biçim (41.71 cm) ve 3. biçimde (41.47 cm) ise, birbirine yakın değerler saptanmıştır.

Biçim zamanı düzeyinde yapılan değerlendirmede; % 50 çiçeklenmede (50.47 cm) % 10 çiçeklenme (43.50 cm) zamanına göre daha yüksek boylu bitkiler biçilmiştir (Çizelge 5).

Araştırmanın 2. yılında verilerin değerlendirilmesi ile elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre; çeşitler arası fark, biçim dönemleri arası fark ile biçim dönemi x biçim zamanı etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 5).

Araştırmanın 2. yılında bitki boyuna ait sonuçların değerlendirilmesi ile biçim dönemi x biçim zamanı etkisinde; en fazla boylanmanın (60.60 cm) 1. biçimde, % 50 çiçeklenme zamanında, en az boylanma ise (35.35 cm) 3. biçim %10 çiçeklenme zamanında olduğu belirlenmiştir.

Çeşit x biçim dönemi etkisinde; en fazla boylanmanın 1. biçimde Verko (66.70 cm) çeşidinde olduğu, yine 1. biçimde Gözlü-1 (63.86 cm) çeşidinin ikinci sırada yer aldığı belirlenmiştir. En az boylanma ise 2. biçimde Bilensoy-80 (35.68 cm) çeşidinde saptanmıştır (Çizelge 5).

Çizelge 5. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin bitki boyu (cm) değerleri ve önemlilik grupları (2017-2018)

Çeşitler	Biçim dönemi									Çiçek Ort.	Çiçek Ort.	Ort.
	1. Biçim			2. Biçim			3. Biçim					
	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.			
Gözlü-1	60.36	67.36	63.86ab	43.83	43.15	43.49cd	32.40	50.04	41.22cd	45.53	53.52	49.53ab
Bilensoy-80	52.90	59.23	56.06b	31.53	39.83	35.68d	36.10	46.36	41.23cd	40.18	48.47	44.33bc
Prosementi	53.35	58.20	55.77b	41.85	42.42	42.13cd	39.83	46.82	43.32cd	45.01	49.15	47.08ab
Plato	44.85	48.05	46.45c	38.20	42.95	40.57cd	33.22	44.07	38.64cd	38.76	45.02	41.89c
Verko	63.20	70.20	66.70a	45.65	47.70	46.67c	35.22	50.73	42.97cd	48.02	56.21	52.12a
Ort.	54.93a	60.60a	57.77a	40.21c	43.21c	41.71b	35.35d	47.60b	41.47b	43.50b	50.47a	46.99

LSD: biçim dönemi: 4.066**; çeşit:5.249**; biçim zamanı:3.320**; biçim dönemi x biçim zamanı int.: 5.713**; biçim dönemi x çeşit int.: 9.034**.

İlk biçimden itibaren 3. biçime kadar devam eden gelişme süreci boyunca bitki boyundaki azalma yoncanın kıraç koşullarda yetiştirilmesinden kaynaklanmaktadır. Baharın ilk dönemlerinde yağış ve sıcaklığın bitki gelişimi için çok uygun olduğu dönem olması sebebi 1. biçimde döneminde gelişme döneminin avantajlı olması nedeni ile boyları birbirine yakın olan yüksek boylu bitkilerde biçim yapılmıştır. 2. ve 3. biçimlerde ise sıcaklık artışı ve yağışın azalması ile birlikte bitki boyu giderek azalmıştır.

Elde edilen bulgular; biçim zamanının gecikmesi ile yoncanın bitki boyunun arttığını bildiren Chen ve ark. (2013)'nin bulguları (51.3 -76.6 cm) ile % 10 ve tam çiçeklenme zamanında ortalama bitki boyunun 57.3 ve 81.9 cm arasında değiştiğini bildiren Mutlu (2019)'nun araştırma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

3.2. Yeşil ot verimi (kg/da):

Araştırmanın ilk yılında (2016-2017) verilerin değerlendirilmesi ile elde varyans analiz sonuçlarına göre çeşitler arası fark, biçim dönemleri arası fark, biçim zamanları arasındaki fark ile biçim dönemi x biçim zamanı etkileşimi ve çeşit x biçim dönemi x biçim zamanı etkileşimi önemli bulunmuştur.

Araştırmanın ilk yılına ait yeşil ot verimi (kg/da) ortalama değerleri ve önemlilik grupları Çizelge 6'da verilmiştir. Çeşit düzeyinde yapılan değerlendirmede; en fazla yeşil ot verimi 5718.21 kg/da ile Gözlü-1 çeşidinden en az verim ise 4526.00 kg/da ile Prosementi çeşidinden alınmıştır.

Biçim dönemi açısından incelendiğinde ise; en yüksek verim 2. biçimde (2911.17 kg/da), en düşük verim ise, 3. biçimde (657.57 kg/da) alınmıştır. % 50 çiçeklenme zamanında yapılan biçimlerde elde edilen toplam yeşil ot verimi 5855.85 kg/da ile % 10 çiçeklenme zamanında yapılan biçimlerden elde edilen 4033.68 kg/da verime göre yüksek bulunmuştur (Çizelge 6).

Biçim dönemi x biçim zamanı etkileşimi incelendiğinde; 2. biçimde % 50 çiçeklenme (3416.66 kg/da) zamanında elde edilen ot veriminin diğer etkileşimlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. En düşük verim 3. biçimde % 10 çiçeklenme (547.00 kg/da) zamanında saptanmıştır (Çizelge 6).

Biçim dönemi x zamanı x çeşit etkileşimi açısından incelendiğinde; 2. biçimde, % 50 çiçeklenme zamanında biçilen Gözlü-1 (4250.00 kg/da) çeşidi en yüksek yeşil ot verimine sahip iken, 3. biçimde % 10 çiçeklenme zamanında biçilen Plato çeşidinde (400.00 kg/da) en düşük ot verimi belirlenmiştir (Çizelge 6). İkinci biçimin ilk biçim ile üçüncü biçimden yüksek verime sahip olmuştur.

Araştırmanın ikinci yılında yonca çeşitlerinin yeşil ot verimlerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen varyans analiz tablosu değerlendirilmesi ile biçim dönemleri arası fark, biçim zamanları arasındaki fark ile biçim dönemi x biçim zamanı etkileşimi ve çeşit x biçim dönemi x biçim zamanı etkileşimi önemli bulunmuştur.

Yonca çeşitlerinin yeşil ot verim değerleri (kg/da) ve önemlilik grupları Çizelge 7'de verilmiştir. Çizelge 7'den görüleceği gibi; biçim dönemi açısından yapılan değerlendirmede; 2. biçimden elde edilen ot veriminin (1255.27 kg/da) diğer biçimlerden (1. biçim 952.95 kg/da; 3. biçim 390.93 kg/da) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Yaz sıcaklığının artması ve yağışların yoncanın ihtiyaç duyduğu dönemde düşmemesi nedeniyle en az verim son biçimde alınmıştır.

Biçim zamanı dikkate alındığında ise % 50 çiçeklenme (1021.02 kg/da) döneminde yapılan geciktirilmiş biçimin, % 10 çiçeklenme (703.15 kg/da) dönemine göre daha yüksek verime sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 7).

Biçim dönemi x biçim zamanı interaksiyonu incelendiğinde ise; 2. biçimde %50 çiçeklenme döneminde alınan verim (1490.55 kg/da) diğer interaksyonlardan daha yüksek olmuştur. Bu konuda en düşük verim (327.35 kg/da); 3. biçimde % 10 çiçeklenme döneminde yapılan biçimlerden elde edilmiştir (Çizelge 7).

Devam eden süreçte; biçim dönemi x biçim zamanı x çeşit interaksiyonunda en yüksek ot verimi 1. biçimde % 50 çiçeklenme döneminde Gözlü-1, çeşidinde (1666.67 kg/da), en az verimin ise, 3. biçimde % 10 çiçeklenme döneminde yapılan biçimde Bilensoy-80 (194.81 kg/da) çeşidinde olduğu saptanmıştır (Çizelge 7). Kıraç koşullarda yürütülen araştırmada üçüncü biçimin yoğun sıcaklara tesadüf etmesi nedeni ile tüm çeşitlerde belirgin verim azalması meydana gelmiştir. Bu konuda Bilensoy-80 diğer çeşitlerden daha fazla etkilenmiştir.

Toplam yeşil ot verimlerine ait değerler biçim zamanı bakımından incelendiğinde; % 50 çiçeklenme döneminde biçilen (3063.06 kg/da) yoncalardan % 10 çiçeklenme dönemine (2109.45 kg/da) göre daha fazla yeşil ot alınmıştır (Çizelge 7).

Elde edilen sonuçların en yüksek ot verimini çeşide göre, yoncanın farklı gelişme döneminde elde eden Bulur (2000)'dan farklı, % 10 çiçeklenme döneminde elde ettiğimiz yeşil ot veriminin aynı gelişme döneminde biçim yapan, Altınok ve Karakaya (2002) bulguları ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Haymana koşullarında farklı biçim zamanlarının (Vejetatif, tomurcuklanma, %10 çiçeklenme ve çiçeklenme dönemi sonu ve bakla bağlama) ot verimine etkisinin araştırıldığı çalışmada en yüksek verimin 4732.2 kg/da ile tam çiçeklenme döneminde alındığını, ancak daha kaliteli ot eldesi için %50 çiçeklenme döneminin daha uygun olduğunu bildiren Mutlu (2019)'nun sonuçları ile benzer bulunmuştur. Yonca geniş adaptasyon yeteneği ile farklı koşullara uyum sağlama yeteneği ile farklı bölge ve koşullarda biçim zamanına bağlı olarak geç biçimin yeşil ot veriminin yüksek olması doğaldır.

3.3. Kuru Ot Verimi (kg/da)

Araştırmanın ilk yılında yonca çeşitlerinin kuru ot verimlerine ait araştırma varyans analiz sonuçlarının değerlendirilmesi ile biçim dönemleri arası fark (Ort.), biçim dönemleri arası fark (Top.), biçim zamanları arası fark ile biçim dönemi x biçim zamanı interaksiyonu istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.

Araştırmanın ilk yılında (2016-2017) farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin kuru ot verimi (kg/da) değerleri ve önemlilik grupları Çizelge 8'de verilmiştir.

Kuru ot verimi bakımından biçim dönemleri arası farkın istatistiki olarak önemli olduğu, en yüksek kuru ot veriminin 2. biçimde (561.66 kg/da), en düşük kuru ot verimi ise 1. biçimde (212.77 kg/da) belirlenmiştir (Çizelge 8).

% 50 çiçeklenme zamanında alınan ortalama kuru ot verimi (384.31 kg/da), % 10 çiçeklenme zamanına göre daha yüksek (279.10 kg/da) olmuştur (Çizelge 8). Toplam kuru ot verimi değerlendirildiğinde yine % 50 çiçeklenmede belirlenen kuru ot verimi (1152.93 kg/da), % 10 çiçeklenme zamanına (837.30 kg/da) kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 8).

Biçim dönemi x biçim zamanı interaksiyonunda en yüksek verimin (774.99 kg/da) 2. Biçimde, % 50 çiçeklenmede, en düşük verimin ise (114.66 kg/da) 3. biçimde % 50 çiçeklenme zamanında olduğu saptanmıştır (Çizelge 8).

Araştırmanın ikinci yılında yonca çeşitlerinin kuru ot verimlerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre çeşitler arası fark, biçim dönemleri arası fark, biçim zamanları arasındaki fark ile çeşit x biçim zamanı interaksiyonu önemli bulunmuştur.

Araştırmanın ikinci yılında (2017-2018) kuru ot verimi (kg/da) değerlerine ilişkin veriler ve önemlilik grupları Çizelge 9'da verilmiştir. Çizelge 9'dan görüleceği gibi, en yüksek kuru ot verimi Verko (694.14 kg/da) ve Gözlü-1 (657.60 kg/da) çeşitlerinde, en düşük verim (451.62 kg/da) ise Plato çeşidinde belirlenmiştir (Çizelge 9).

Biçim dönemlerine bakıldığında ilk (221.33 kg/da) ve ikinci biçimin kuru ot verimi (253.53 kg/da) 3. biçimin veriminden (102.27 kg/da) yüksek bulunmuştur.

Biçim zamanlarına bakıldığında; % 50 çiçeklenme zamanında hasat edilen yonca çeşitlerinin ortalama kuru ot verimi 212.22 kg/da, % 10 çiçeklenmede ise 172.53 kg/da olarak belirlenmiştir (Çizelge 9). Biçim zamanlarında elde edilen toplam kuru ot verimine bakıldığında yine % 50

çiçeklenme zamanında yapılan biçimde elde edilen 636.66 kg/da kuru ot verimi, % 10 çiçeklenmede elde edilen 517.59 kg/da verimden yüksek ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çeşit x biçim zamanı interaksyonunda biçim ortalaması bazında en yüksek kuru ot verimi % 50 çiçeklenmede biçilen Gözlü-1 çeşidi (263.01 kg/da) ile % 10 çiçeklenme zamanında biçilen Verko (257.03 kg/da) çeşidinde belirlenmiştir. En az verimin ise % 10 çiçeklenme zamanında (124.62 kg/da) Plato çeşidinde olduğu saptanmıştır (Çizelge 9).

Çeşit x biçim zamanı interaksyonunda elde edilen en yüksek toplam kuru ot verimi % 50 çiçeklenme zamanında biçilen Gözlü-1 çeşidi (789.30 kg/da) ile % 10 çiçeklenme zamanında biçilen Verko (771.09 kg/da) çeşidinde belirlenmiştir. En az verim % 10 çiçeklenme zamanında biçilen (373.86 kg/da) Plato çeşidinde saptanmıştır (Çizelge 9).

Yağış rejiminin ilk yıl yoncanın gelişmesine uygun olduğu, ikinci yıl ise daha fazla yağmur alınmasına rağmen zamansız yoğun yağmurlar sorun oluşturmuş ve kuru ot üretimini olumsuz yönde etkilemiştir.

Elde edilen bulgular, en yüksek kuru ot verimini çeşide göre, yoncanın farklı gelişme döneminde elde eden Bulur (2000)'un sonuçları ile benzer bulunurken, en yüksek kuru ot verimini çiçeklenme başlangıcında tespit eden Altınok ve Karakaya (2002), Yolcu ve ark. (2006) ile Milic ve ark. (2014)'nın sonuçlarından farklı bulunmuştur. Gelişme dönemi ilerledikçe, yoncanın kuru ot veriminin yükseldiğini bildiren Weir ve ark. (1960), Mala ve Fadlalla (2013), Chen ve ark. (2013) ve Mutlu (2019)'nun bulguları bizim sonuçlarımızla uyumlu bulunmuştur. Trakya bölgesinde Kırklareli koşullarında benzer konularda yürüyen araştırmalardan elde edilen kuru ot verimi, bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Çizelge 6. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin yeşil ot verimi (kg/da) değerleri ve önemlilik grupları (2016-2017)

Çeşitler	Biçim Dönemi									%10 Çiçek Ort.	%50 Çiçek Ort.	Biçim zamanı Ort.	%10 Çiçek Top.	%50 Çiçek Top.	Toplam verim Ort.
	1. Biçim			2. Biçim			3. Biçim								
	%10			%50			Ort.								
	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.						
Gözlü-1	1035.33h-m	1983.33efg	1509.33	2344.43def	4250.00a	3297.21	593.33 klm	1230.00g-m	911.66	1324.36	2.487.78	1906.07	3973.08	7463.34	5718.21a
Bilensoy-80	1339.00g-l	1333.33g-l	1336.16	2370def	3333.33bc	2851.66	483.33 lm	520.00lm	501.66	1397.44	1728.89	1563.17	4192.32	5186.67	4689.50b
Prosementi	747.33j-m	1630.00f-ı	1188.66	2343def	3000.00bcd	2671.50	533.33lm	798.33i-m	665.83	1207.89	1809.44	1508.67	3623.67	5428.32	4526.00b
Plato	822.00i-m	1591.66f-j	1206.83	3116.03bcd	2750.00cde	2933.01	400.00m	518.33lm	459.16	1446.01	1619.99	1533.00	4338.03	4859.97	4599.00b
Verko	1461.33g-k	1817.00fgh	1639.16	1854.93fgh	3750.00ab	2802.46	725.00j-m	774.0i-m	749.53	1347.09	2113.67	1730.38	4041.27	6341.01	5191.14ab
Ort.	1080.99d	1671.06c	1376.03b	2405.67b	3416.66a	2911.17a	547.00e	768.13de	657.57c	1344.56b	1951.95a	1648.26	4033.68 b	5855.85 a	4944.78

LSD: çeşit: 268.320*; biçim dönemi: 279.904**; biçim zamanı: 228.541**; biçim dönemi x biçim zamanı int.:393.376**; biçim dönemi x biçim zamanı x çeşit int.: 879.615**.

Çizelge 7. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin yeşil ot verimi (kg/da) değerleri ve önemlilik grupları (2017-2018)

Çeşitler	Biçim Dönemi									%10 Çiçek Ort.	%50 Çiçek Ort.	Biçim zamanı Ort.	%10 Çiçek Top.	%50 Çiçek Top.	Toplam verim Ort.
	1. Biçim			2. Biçim			3. Biçim								
	%10			%50			Ort.								
	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.						
Gözlü-1	629.56ghi	1666.67a	1148.11	933.34efg	1250.00b-e	1091.67	380.14ij	459.78j	419.96	674.68	1125.48	900.08	2024.04	3376.44	2700.24
Bilensoy-80	600.00g-j	1066.67c-f	833.33	866.67e-h	1666.67a	1266.67	194.81ij	401.41ij	298.11	553.83	1044.91	799.37	1661.49	3134.73	2398.08
Prosementi	966.67d-g	1133.33b-e	1050.00	900.00efg	1494.44ab	1197.22	407.83g-j	378.96ij	393.40	758.16	1002.24	880.20	2274.48	3006.72	2640.61
Plato	666.67f-i	1000.00c-g	833.33	1000.00c-g	1666.67a	1333.34	346.85ij	601.01ij	473.93	671.17	1019.26	845.22	2013.51	3057.78	2535.65
Verko	866.67e-h	933.30efg	899.98	1400.00abc	1375.00a-d	1387.50	307.13ij	431.34ij	369.24	857.93	913.21	885.57	2573.79	2739.63	2656.71
Ort.	745.91c	1159.99b	952.95b	102.000b	1490.55a	1255.27a	327.35d	454.50d	390.93c	703.15b	1021.02a	862.09	2109.45b	3063.06a	2586.26

LSD₀: biçim dönemi: 173.111**; biçim zamanı (Ort.):141.345**; biçim dönemi x biçim zamanı int.: 243.289**; biçim dönemi x biçim zamanı x çeşit int.:408.877**; biçim zamanı (Top): 387.36**.

Çizelge 8. Yonca çeşitlerinin kuru ot verimi (kg/da) değerleri ve önemlilik grupları (2016-2017 yetiştirme dönemi)

Çeşitler	Biçim Dönemi									%10 Çiçek Ort.	%50 Çiçek Ort.	Biçim zamanı Ort.	%10 Çiçek Top.	%50 Çiçek Top.	Toplam verim Ort.
	1. Biçim			2. Biçim			3. Biçim								
	%10			%50			Ort.								
	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.						
Gözlü-1	150.67	304.13	227.4	342.00	798.33	570.16	466.66	129.06	297.86	319.77	410.50	365.14	959.33	1231.50	1095.42
Bilensoy-80	200.85	220.90	210.87	366.66	700.00	533.33	233.33	97.50	165.41	266.94	339.46	303.20	800.82	1018.38	909.60
Prosementi	119.54	250.06	184.8	365.00	705.00	535.00	333.33	109.56	221.44	272.62	354.87	313.74	817.86	1064.61	939.6
Plato	127.66	225.66	176.66	483.33	953.33	718.33	266.66	108.96	187.81	292.55	429.31	360.93	877.65	1287.93	1082.79
Verko	212.58	315.70	264.14	185.00	718.33	451.66	333.33	128.23	230.78	243.63	387.42	315.52	730.87	1162.26	946.56
Ort.	162.26cd	263.29bc	212.77b	348.39b	774.99a	561.69a	326.66b	114.66d	220.66b	279.10b	384.31a	331.71	837.30b	1152.93a	995.13

LSD: biçim dönemi: 86.720**; biçim zamanı (Ort.):70.806**; biçim dönemi x biçim zamanı:121.875**; biçim zamanı (Top): 212.418**.

Çizelge 9. Yonca çeşitlerinin kuru ot verimi (kg/da) değerleri ve önemlilik grupları (2017-2018 yetiştirme dönemi)

Çeşitler	Biçim Dönemi									%10 Çiçek Ort.	%50 Çiçek Ort.	Biçim zamanı Ort.	%10 Çiçek Top.	%50 Çiçek Top.	Toplam verim
	1. Biçim			2. Biçim			3. Biçim								
	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.	%10	%50	Ort.						
Gözlü-1	200.00	266.67	233.33	266.67	366.67	316.67	59.55	155.69	107.62	175.40bcd	263.01a	219.20a	526.20bcd	789.30a	657.60a
Bilensoy-80	213.33	160.00	186.66	240.00	302.00	271.00	53.55	108.08	80.815	168.96bcd	190.02a-d	179.49ab	506.88bcd	570.06a-d	538.47ab
Prosementi	120.00	280.00	200.00	200.00	263.33	231.66	89.96	134.34	112.15	136.65cd	225.89ab	181.27ab	409.95cd	677.67ab	543.81ab
Plato	160.00	200.00	180.00	160.00	230.00	195.00	53.88	99.39	76.63	124.62d	176.46bcd	150.54b	373.86d	529.38bcd	451.62b
Verko	373.33	240.00	306.66	280.00	226.67	253.33	117.78	150.50	134.14	257.03a	205.72abc	231.38a	771.09a	617.16abc	694.14a
Ort.	213.33	229.33	221.33a	229.33	277.73	253.53a	74.94	129.60	102.27b	172.53b	212.22a	192.37	517.59b	636.66a	577.11

LSD: biçim dönemi: 43.170**; biçim zamanı (Ort.): 35.248**; Çeşit (Ort.): 55.732**; biçim zamanı x çeşit int. (Ort.): 78.324**; biçim zamanı (Top.): 90.643*; Çeşit (Top.): 143.319*; biçim zamanı x çeşit int. (Top.): 201.858*.

3.3. Kalite analizleri

3.3.1 Protein oranı (%):

Araştırmanın ilk yılında yonca çeşitlerinin otundaki protein oranlarına ait varyans analiz sonuçlarına göre biçim dönemleri arası fark önemli bulunmuştur.

Araştırmanın ilk yılında (2016-2017) yonca çeşitlerinin otundaki protein oranları (%) ve önemlilik grupları Çizelge 10'da verilmiştir.

Çizelge 10. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin protein (%) değerleri ve önemlilik grupları (2016-2017)

Çeşitler	Biçim dönemi						% 10 Çiçeklenme Ort.	% 50 Çiçeklenme Ort.	Ort.
	2. Biçim			3. Biçim					
	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.			
Gözlü-1	20.56	20.55	20.55	21.16	21.34	21.25	20.86	20.94	20.20
Bilensoy-80	20.53	20.55	20.54	22.54	23.57	23.05	21.53	22.06	21.80
Prosementi	20.58	21.59	21.08	21.16	21.62	21.34	20.87	21.60	21.24
Plato	20.53	20.54	20.53	22.56	21.02	21.78	21.54	20.78	21.16
Verko	20.55	20.57	20.56	21.64	22.26	21.95	21.09	21.41	21.25
Ortalama	20.55	20.76	20.65b	21.81	21.96	21.87a	21.18	21.36	21.13

LSD: biçim dönemi: 0.654**.

2016-2017 yetiştirme döneminde yonca otunun protein oranlarına ilişkin araştırma sonuçları ait biçim dönemi incelendiğinde; 3. biçimde elde edilen otun protein oranı (% 21.89) ilk grupta yer almış ve 2. biçimden (% 20.65) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 10).

Araştırmanın ikinci yılında (2017-2018) protein (%) oranlarına ait varyans analiz sonuçlarına göre yoncanın biçim zamanı dışında araştırmaya konu faktörler ve interaksyonları önemli bulunmamıştır. Araştırmanın ikinci yılında (2017-2018) yonca çeşitlerinin otunda belirlenen protein oranlarına ilişkin değerler ve önemlilik grupları Çizelge 11'de verilmiştir.

Çizelge 11. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin protein oranları (%) ve önemlilik grupları (2017-2018)

Çeşitler	1. Biçim		
	Biçim dönemi		
	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.
Gözlü-1	22.54	21.17	21.85
Bilensoy-80	23.99	21.25	22.62
Prosementi	23.22	20.61	21.91
Plato	21.21	20.35	20.78
Verko	22.69	21.50	22.09
Ort.	22.73a	20.97b	

LSD: biçim dönemi: 1.281*.

2017-2018 yetiştirme döneminde yonca otundaki protein içeriğine (%) ait araştırma sonuçları biçim zamanı açısından incelendiğinde; % 10 çiçeklenme zamanındaki protein oranı (% 22.73), % 50 çiçeklenme zamanında biçilen yonca otunun protein oranından (% 20.98) yüksek bulunmuştur (Çizelge 11).

Elde ettiğimiz sonuçların Weir ve ark. (1960), Probst (2008), Mala ve Fadlalla, (2013; % 26-17), Chen ve ark. (2013; % 25-18.42) ile Mutlu (% 22.6-25.5) 'nun bulguları ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Erken yapılan biçimlerin daha yüksek protein oranının sahip olması doğaldır. En yüksek protein oranının yoncanın vejetatif döneminde yapılan biçimlerden alınması biçimlerin gecikmesi ile birlikte azalması beklenen bir sonuç olmuştur.

3.3.2 NDF oranı (%):

Hücre duvarı elemanlarının belirlenmesinde kullanılan yonca otunun NDF oranı, nötr deterjan çözeltilde çözünmeyen hemiselüloz, selüloz, lignin, kütin ve silikadan oluşan lifli maddeler olarak tanımlanabilir.

Araştırmanın ilk yılında yonca çeşitlerinin kuru otunun NDF oranlarının değerlendirilmesi sonucunda elde edilen varyans analizine göre biçim dönemleri arası fark, biçim zamanları arasındaki fark ile biçim dönemi x biçim zamanı etkileşimini önemli bulunmuştur.

Araştırmanın ilk yılında (2016-2017) farklı biçim döneminin yonca otunun kalitesine olan etkisinin belirlendiği çalışmada, 2. biçimde (% 43.36) belirlenen NDF oranı, 3. biçimden (% 40.60) yüksek bulunmuştur (Çizelge 12).

Çizelge 12. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin NDF (%) oranları ve önemlilik grupları (2016-2017)

Çeşitler	Biçim dönemi						% 10 Çiçeklenme Ort.	% 50 Çiçeklenme Ort.	Ort.
	2. Biçim			3. Biçim					
	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.			
Gözlü-1	43.53	43.81	43.67	37.73	43.57	40.65	40.63	43.69	42.16
Bilensoy-80	43.42	43.42	43.42	39.90	44.16	42.03	41.66	43.79	42.72
Prosementi	41.58	43.33	42.46	38.68	42.58	40.63	40.13	42.96	41.54
Plato	43.49	43.57	43.53	38.54	40.39	39.46	41.01	41.98	41.50
Verko	43.74	43.73	43.74	39.02	41.45	40.23	41.38	42.59	41.98
Ortalama	43.15ab	43.57a	43.36a	38.77c	42.43b	40.60b	40.96b	43.02a	41.98

LSD: Biçim dönemi:1.213**; biçim zamanı:1.213**; biçim dönemi x biçim zamanı:0.885**.

2016-2017 yetiştirme döneminde biçim zamanı bakımından incelendiğinde; % 10 çiçeklenme zamanında biçilen yoncanın NDF oranı (% 40.96) % 50 çiçeklenme zamanında yapılan biçime (% 43.00) göre daha yüksek bulunmuştur. % 10 çiçeklenme zamanından sonra geçen süre ile birlikte NDF oranının yükseldiği, otun kalitesinin azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 12).

Biçim dönemi x biçim zamanı etkileşiminde en yüksek NDF oranı 2. Biçim döneminde % 50 çiçeklenme zamanında (% 43.57), en düşük NDF oranı ise 3. biçimde % 10 çiçeklenme zamanında (% 38.77) belirlenmiştir. İkinci biçimden sonra bitkilerin 3. biçim döneminde yağışların bu dönemde yaşanması ve sıcaklığın uygun olması NDF oranını düşürmüş ve daha kaliteli ot elde edilmiştir (Çizelge 12).

Araştırmada kullanılan yonca çeşitlerinin araştırmanın ikinci yılında (2017-2018) NDF (%) oranlarına ait ortalama değerler ve önemlilik grupları Çizelge 13'te verilmiştir.

2017-2018 yetiştirme döneminde NDF oranları biçim zamanı bakımından incelendiğinde; biçim zamanı geciktikçe örneğin %10 çiçeklenme zamanında %38.95 iken, %50 çiçeklenme zamanında %47.42'ye yükselmiş ve otun kalitesi olumsuz yönde etkilenmiştir (Çizelge 13).

Otun NDF oranı biçim döneminde yaşanan gecikmeye bağlı olarak yükselmekte ve yonca otunun kalitesini olumsuz etkilemektedir. (Redfearn ve Zhang, 2011; Kazemi ve ark., 2012). NDF oranı hücre duvarının ne kadarının sindirilebileceğini belirleyen kalite indikatörüdür (Marsalis ve ark., 2009). NDF'yi oluşturan selüloz, hemiselüloz ve ligninin ruminantlar tarafından sindirimi oldukça zordur (Mertens, 2011).

Çizelge 13. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin NDF (%) oranları ve önemlilik grupları (2017-2018)

Çeşitler	Biçim dönemi		
	1. Biçim		Ortalama
% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme		
Gözlü-1	38.97	49.27	44.12
Bilensoy-80	40.26	46.85	43.55
Prosementi	40.14	47.48	43.81
Plato	37.73	47.31	42.52
Verko	37.67	46.18	41.92
Ortalama	38.95b	47.42a	

LSD: biçim dönemi: 1.941**.

Araştırmamızdan elde edilen NDF oranları; Probst (2008)'un farklı biçim aralıkları ile (25, 30, 35 ve 40 gün) yaptığı araştırmadan elde ettiği sonuçlar (sırası ile %37.6, 38.0, 38.0 ve 39.3), %10 çiçeklenme zamanında elde ettiğimiz bulgularla uygunluk gösterirken, %50 çiçeklenme zamanında biçilen yoncaların NDF oranları sonuçlarımızdan düşük bulunmuştur. Benzer konuda Ankara koşullarında yürütülen araştırmada Mutlu (2019)'nun % 10 çiçeklenme (% 48.3) ve tam çiçeklenme döneminde (%50.8) biçtiği yoncanın NDF oranı bizim bulgularımızdan yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda % 10 çiçeklenme döneminde biçilen yonca otunun, %50 çiçeklenme zamanında yapılan biçime göre daha kaliteli olduğu literatür bildirişleri ile desteklenmektedir (Redfearn ve Zhang, 2011; Kazemi ve ark., 2012).

Önceki çalışmaların değerlendirilmesi ile ortaya çıkan farklılığın araştırmaların yürütüldüğü lokasyonlardaki iklim ve toprak koşullarındaki farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir.

3.3.3 ADF oranı (%)

ADF oranı, asit deterjan lif, bitki hücre duvarında yer alan ve asit deterjan solüsyonlarda çözünmeyen selüloz, lignin, kütin ve silikadan oluşan kaba yemin sindirilme özelliği ve net enerji değerinin belirlenmesine yardımcı olan lifli maddeler olarak tanımlanmaktadır. Kalitenin belirlendiği bu değerlerin pratikte % 31'in altında olması arzu edilmektedir (Redfearn ve Zhang, 2011; Kazemi ve ark., 2012). Araştırmanın ilk yılında yonca çeşitlerinin kuru otunun ADF oranlarının değerlendirilmesi sonucunda elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre biçim zamanları arasındaki fark istatistiki yönden önemli bulunmuştur. Çeşitler arası fark ile biçim dönemleri arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 14).

Çizelge 14. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin ADF (%) oranları ve önemlilik grupları (2016-2017)

Çeşitler	Biçim dönemi						%10 Çiçeklenme Ort.	%50 Çiçeklenme Ort.	Ort.
	2.Biçim			3.Biçim					
	%10 Çiçeklenme	%50 Çiçeklenme	Ort.	%10 Çiçeklenme	%50 Çiçeklenme	Ort.			
Gözlü-1	41.97	41.96	41.97	40.21	44.38	42.29	41.09	43.17	42.13
Bilensoy-80	39.21	42.04	40.63	39.18	43.63	41.41	39.20	42.84	41.02
Prosementi	40.14	38.33	39.24	40.44	43.31	41.88	40.29	40.82	40.56
Plato	38.55	42.95	40.75	40.06	42.56	41.31	39.30	42.75	41.03
Verko	40.94	42.44	41.69	40.83	43.06	41.94	40.80	42.75	41.82
Ortalama	40.16	41.54	40.86	40.14	43.39	41.77	40.15b	42.47a	

LSD: biçim zamanı: 2.010**.

Araştırmanın ikinci yılında 1. biçim döneminde yapılan biçimlerde alınan kuru otun ADF oranlarının değerlendirilmesi sonucunda elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre çeşitler arası fark ile biçim zamanları arası fark istatistiki yönden önemli bulunmuştur.

Araştırmanın ikinci yılında (2017-2018) ise ADF (%) değerleri ve önemlilik grupları Çizelge 15'te verilmiştir.

2017-2018 yetiştirme döneminde çeşitlerin ADF içerikleri bakımından yapılan değerlendirmede, en yüksek ADF oranı Gözlü-1 çeşidinde (%42.41), en düşük ise (% 40.76) ise Verko çeşidinde belirlenmiştir (Çizelge 15).

Yoncada iki farklı dönemde yapılan biçimlerde % 10 çiçeklenmede yapılan biçimin % 50 çiçeklenme zamanında yapılan biçime göre daha kaliteli ot ürettiği saptanmıştır. Bulgularımız Doohong (2016) (%21.5-35.2) ve Probst (2008) (%25-28.2)' un bulgularından yüksek, Mutlu (2019) (%47.1-%50.8)'nun sonuçlarından düşük bulunmuştur.

Çizelge 15. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin ADF (%) değerleri ve önemlilik grupları (2017-2018)

Çeşitler	Biçim dönemi		
	1. Biçim		
	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.
Gözlü-1	40.74	44.08	42.41a
Bilensoy-80	39.17	43.18	41.18bc
Prosementi	39.34	42.61	40.98bc
Plato	39.45	44.17	41.81ab
Verko	39.31	42.21	40.76c
Ortalama	39.60b	43.25a	41.43

LSD: biçim zamanı: 0.580**, çeşit: 0.964**.

Yapılan değerlendirmede Mutlu (2019)'nun elde ettiği otun ADF içeriğinin bizim bulgularımızdan yüksek olduğu saptanmıştır. Çeşit düzeyinde önemli bulunan ADF içeriğinin sahip oldukları genetik yapıdan kaynaklanmaktadır (Katić ve ark., 2009). ADF oranı bakımından önceki çalışmalara göre belirlenen farklılığın araştırmaların yürütüldüğü ekolojik koşulların farklı olmasından kaynaklanabilir.

3.4.3 Nispi yem değeri (%):

Nispi yem değeri yonca otunun kalitesini belirleyen önemli kriterler arasında yer almaktadır. Araştırmanın ilk yılında yonca çeşitlerinin kuru otunun nispi yem değerinin belirlenmesi sonucunda elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre biçim dönemleri arasındaki fark istatistiki yönden önemli bulunmuştur (Çizelge 16).

Yonca çeşitlerinin araştırmanın ilk yılında 2. ve 3. biçimde iki farklı dönemde yapılan biçimlerde elde edilen örneklerin nispi yem değerleri ve önemlilik grupları Çizelge 16'da verilmiştir.

2016-2017 yetiştirme döneminde nispi yem değerlerine ait araştırma sonuçları biçim dönemi açısından incelendiğinde; 3. biçimin (129.63), 2. biçimden (122.57) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 16).

Çizelge 16. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin nispi yem değerleri (%) ve önemlilik grupları (2016-2017)

Çeşitler	Biçim dönemi						% 10 Çiçeklenme Ort.	% 50 Çiçeklenme Ort.	Ort.
	2. Biçim			3. Biçim					
	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.			
Gözlü-1	119.31	120.15	119.73	123.06	134.57	128.81	121.18	127.36	124.27
Bilensoy-80	125.01	120.28	122.65	123.06	128.14	125.60	124.04	124.21	124.12
Prosementi	123.71	132.98	128.35	125.47	133.81	129.64	124.59	133.39	128.99
Plato	125.66	118.58	122.12	132.95	134.92	133.93	129.30	126.75	128.03
Verko	121.28	118.73	120.01	128.25	132.11	130.18	124.77	125.42	125.09
Ortalama	122.99	122.14	122.57b	126.56	132.71	129.63a	124.78	127.43	126.10

LSD: biçim dönemi: 5.635**.

Çizelge 17. Farklı dönemlerde biçilen yonca çeşitlerinin nispi yem değerleri (%) ve önemlilik grupları (2017-2018)

Çeşitler	Biçim dönemi		
	1. Biçim		
	% 10 Çiçeklenme	% 50 Çiçeklenme	Ort.
Gözlü-1	136.63	103.29	119.96
Bilensoy-80	135.06	110.10	122.58
Prosementi	135.01	109.17	122.09
Plato	143.49	108.13	125.81
Verko	143.95	112.92	128.44
Ortalama	138.83a	108.72b	123.78

LSD: biçim zamanı: 4.421**.

Araştırmanın ikinci yılında çeşitlerin nispi yem değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçlarına göre biçim biçim zamanları arasındaki fark istatistiki yönden önemli bulunurken, çeşitler arası fark önemsiz bulunmuştur (Çizelge 16).

Araştırmanın ikinci yılında (2017-2018) ise NYD değerleri ve önemlilik grupları Çizelge 17'de verilmiştir.

2017-2018 yetiştirme döneminde NYD içerikleri biçim zamanı bakımından incelendiğinde; % 50 çiçeklenme döneminde biçilen otun nispi yem değeri (108.72), geç biçim nedeni ile % 10 çiçeklenme dönemine göre (138.83) daha düşük bulunmuştur (Çizelge 17).

Elde edilen bulgular daha önce aynı konuda çalışmaları bulunan araştırmacıların bulguları ile karşılaştırıldığında; Doohong (2016) (125-195)'nin bulgularına yakın, Probst (2008) (159.1-172.2) ve Mutlu (2019) (147.2-162.5)'nin bulgularından düşük bulunmuştur.

Farklılığın materyal olarak kullanılan çeşitlerden ve sulu koşullarda yürütülen araştırmada yoncanın daha iyi gelişmesi ve daha kaliteli ot üretiminden kaynaklanabilir.

4. Tartışma ve Sonuç

Tekirdağ ekolojik koşullarında 2016-2017 ve 2017-2018 döneminde yürütülen ve Gözlü-1, Bilensoy-80, Prosementi, Verko, Plato çeşitlerinin materyal olarak kullanıldığı araştırmada; en yüksek yeşil ot verimi ilk yıl 4188.98 kg/da ile Gözlü-1 çeşidinde ikinci yıl ise 2955.87 kg/da ile Verko çeşidinde belirlenmiştir. Biçim dönemleri dikkate alındığında iki yılın ortalaması olarak % 50 çiçeklenme dönemi (4274.54 kg/da), % 10 çiçeklenme dönemine göre (3274.40 kg/da) daha fazla yeşil ot verimine sahip olmuştur. Yine iki yıllık ortalama değerlere göre; en yüksek yeşil ot verimi %50 çiçeklenme döneminde Gözlü-1 çeşidi (4924.20 kg/da) ile onu izleyen Verko çeşidinde (4534.00 kg/da) belirlenmiştir. İklim değişikliğinin daha belirgin yaşandığı dönemde bitkisel üretim kadar hayvansal üretimin de etkileeneceği gerçeği kabul edilmelidir. Bu yönde yapılacak çalışmalara yer verilmesi, sonuçlarının da üretici ile paylaşılması önem arz etmektedir.

Tekirdağ susuz koşullarında yapılan araştırmada Gözlü-1 ve Verko çeşidinin % 50 çiçeklenme zamanında biçilerek en yüksek ot veriminin alındığı saptanmıştır. Ancak arzu edildiği takdirde nispi yem değeri yüksek ot üretimi için Verko ve Gözlü çeşitlerinin % 10 çiçeklenme döneminde biçilmesi mümkündür. Kaliteli yonca otunun eldesi için kıraç koşullarda daha fazla çeşidin yer aldığı benzer çalışmaların yapılmasının önemli olduğu görüşündeyiz.

Kaynakça

- Açıkgöz, N., Aktaş, M. E., Mokhaddam, A. F. & Özcan, K. (1994). *Tarist an agrostatistical package programme for personel computer*. E.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Kongresi, İzmir, Turkey.
- Açıkgöz, E. (2001). *Yembitkileri*. (Yenilenmiş 3. Baskı). Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 182, Vipaş A. Ş. Yayın No: 58, İstanbul.
- Açıkgöz, E. & Demirel, M. (2021). Van ili İpekyolu ilçesinde üretilen yonca kuru otunun hasattan depolamaya kadar besin madde kompozisyon düzeyindeki değişimin incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31 (1): 121-132.
- Akyıldız A. R. (1968). *Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu*. A. Ü. Zir. Fak. Yayınları No. 358, Ankara.
- Akyıldız, A. R. (1984). *Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu (İlave İkinci Baskı)*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Uygulama Kılavuzu: 213, Ankara, 227 s.
- Altınok, S. & Karakaya, A. (2002). Forage yield of different alfalfa cultivars under ankara conditions. *Turkish Journal of Agricultural Forestry*, 26, 11-16.
- Anonim. (2018a). T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Tekirdağ İli Uzun Yıllar (1939-2018) Meteorolojik Verileri, Tekirdağ.
- Anonim. (2018b). T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Tekirdağ İli 2016-2018 yılları Meteorolojik Verileri, Tekirdağ.
- Anonim. (2018c). Tekirdağ Ticaret Borsası Toprak Analiz Laboratuvarı.
- Bulur, B. (2000). *Farklı biçim zamanlarının bazı yonca çeşitlerinde (Medicago sativa L.) ot verimi ve kalitesi ile bazı morfolojik özellikleri üzerine etkileri (DR)*. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye.

- Chen, J. S., Gao, C., Di, G. L., Zhu, R. F. & Zhang, Y. X. (2013). Effects of cutting on alfalfa yield and quality in Nortest Chine. *Journal of Animal and Veterinary* 12(2), 253-260.
- Demiroğlu, G., Geren, H. & Avcıoğlu R. (2008). Farklı yonca (Medicago sativa L.) genotiplerinin Ege Bölgesi koşullarına adaptasyonu. *Ege Üniv. Zirat Fak. Derg.*, 45(1), 1-10.
- Doohong, M. (2016). Effects of cutting interval between harvests on dry matter yield and nutritive value in alfalfa. *American Journal of Plant Sciences*, 7, 1226-1231.
- Duke J. A. (1983). Handbook of Energy Crops. NewCROPS web site, Purdue University
- Dunham, J. R. (1998). Relative feed value measures forage quality. *Forage Facts*, 41.
- Kalu, B. A. & Fick, G. W. (1983). Morphological stage of development as a predictor of alfalfa herbage quality. *Crop Sci.* 23, 1167-1172.
- Katić S., Milić D., Karagić Đ., Vasiljević S., Glamović D., & Jajić I. (2009). Variation of protein, cellulose and mineral content of lucerne as influenced by cultivar and cut. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25, 1189-1188.
- Kazemi, M., Tahmasbi, A. M., Naserian, A. A., Valizadeh, R. & Moheghi, M. M. (2012). Potential nutritive value of some forage species used as ruminants feed in Iran. *African Journal of Biotechnology* 11, 12110- 12117.
- Mala, A. S. E. E. & Fadlalla, B. (2013). Effect of stage of cutting alfalfa (berseem) on crude protein content and dry matter yield. *ARP Journal of Science and Technology* 3 (10).
- Marsalis, M. A., Hagevoort, G. R. & Lauriault, L. M. (2009). Hay quality, Sampling and Testing. NMSU Cooperative Extension Service Publication. Las Cruces, NM. Circular 6641. November.
- Maurie` s, M. (2004). Cours Luzerne, 1e` re partie, _Editions France Agricole, Paris, France.
- Mertens, D. (2011). *What are the Five Most Important things to Measure in Hay Crops?* IN Proceedings, Western Alfalfa & Forage Conference, Las Vegas. 11-13 December, 2011.
- Milic, D., Katic, S., Katanski, S., Dugalic, G., Bokan, N. & Vasiljevic, S. (2014). Effect of genotype and applied management on alfalfa yield and quality. *Ratar. Povrt.*51(2).
- Mutlu, Z. (2019). *Bazı yonca çeşitlerinde farklı biçim zamanı uygulamalarının ot verimi ve kalitesi üzerine etkileri (DR)*. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Orloff, B. S. & Putnam, H. D. (2007). Harvest Strategies for Alfalfa University of California California Alfalfa Workgroup Homepage.
https://alfalfa.ucdavis.edu/IrrigatedAlfalfa/pdfs/UCAlfalfa8299HarvestStrategies_free.pdf
Erisim Tarihi: 01.08.2020.
- Orloff B. S, Putnam D. & Khaled B. D. (2015). "Drought Strategies For Alfalfa" Df] Drought Tıp: Drought Strategies for Alfalfa-California Alfalfa <http://anrcatalog.ucanr.edu/> Erisim Tarihi: 01.08.2020.
- Probst, T.A. (2008). *Harvest frequency and cultivar effects on yield, quality, and regrowth rate among new alfalfa cultivars*. University of Kentucky Master's Theses. Paper 527.
- Putnam, H. D., Robinson, P. & Petrs, De. Ed. (2008). "Forage Quality and Testing" Extension Specialist, Department of Plant Sciences., University of California, Divison of agriculture and Natural Resources UCD Alfalfa Workgroup - California Alfalfa Workgroup.
- Redfearn, D. & Zhang, H. (2011). Forage Quality interpretations, Oklahoma cooperative extension service, PSS 2117
- Relative feed value and quality index. Pp.16-31 In: Proc. Florida Ruminant Nutrition Symposium, January 10-11, University of Florida, Gainesville.
- Rivera D. & Parish J. (2010). *Interpreting forage and feed analysis*. Report. 2620, Mississippi State University.
- Saruhan, V. & Kuşvuran, A. (2011). Güneydoğu Anadolu Bölgesi koşullarında bazı yonca (*Medicago sativa* L.) çeşitleri ve genotiplerinin verim performanslarının belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48 (2), 131-138.
- TÜİK. (2019). Türkiye İstatistik Kurumu İstatistiki Göstergeler. Yem Bitkileri İstatistikleri.
- TÜİK. (2020). Türkiye İstatistik Kurumu İstatistiki Göstergeler. Yem Bitkileri İstatistikleri.
- Undersander, D., Cosgrove, D., Cullen, E., Craig, G., Marlin, E. R., Mark, R., Sheaffer, C., Glen, Shewmaker, G. & Sulc, M. (2011). Alfalfa Management Guide" This publication is a joint effort of: University of Wisconsin-Extension, Cooperative Extension Minnesota Extension Service, Uni Published by: American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of

- America, Inc. Soil Science Society of America, Inc. © 2011 by American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., and Soil Science Society of America, Inc.versity of Minnesota Iowa State University Cooperative Extension Service Alfalfa Management Guide- American Society of Agronomy.
- Weir, W. C., Jones, L. G. & Meyer, J. H. (1960). Effect of cutting interval and stage of maturity on the digestibility and yield of alfalfa. *J Anim Sci* 19, 5-19.
- Veronesi, F., Brummer, E. C. & Huyghe, C. (2010). *Alfalfa*. In: Boller, B.; Posselt, U. K.; Veronesi, F. (Eds). Handbook of plant breeding: Fodder crops and amenity grasses, vol 5, Springer Vilela D., 2001. Milk production of cows on alfalfa pasture. *Informe Agropecuario*, 22 (211), 38-43.
- Yolcu, H., Tan, M. & Serin, Y. (2006). Effects of early cutting time and stubble height on yield and quality in lucerne. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 49(2), 201-206.
- Yüksel, O., Albayrak, S., Türk, M. & Sevimay, C. S. (2016). Dry matter yields and some quality features of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars under two different locations of Turkey. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 20(2), 155-160.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Ekmeklik Buğdayda Optik Sensör ile Azotlu Gübre Tavsiyesi

Erdinç SAVAŞLI^{*1}, Oğuz ÖNDER², Ramis DAYIOĞLU³, Didem ÖZEN⁴, Yaşar KARADUMAN⁵, Suat ÖZDEMİR⁶, Özgür ATEŞ⁷, Melih ÖZSAYIN⁸

^{1,2,3,4,6,7,8}Transitional Zone Agricultural Research Institute, Eskişehir, Turkey

⁵Department of Food Engineering, Osmangazi University, Eskişehir, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-5326-4710> ²<https://orcid.org/0000-0002-8184-1316> ³<https://orcid.org/0000-0002-7134-4965>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-2495-0516> ⁵<https://orcid.org/0000-0002-5089-807X> ⁶<https://orcid.org/0000-0003-1306-3572>

⁷<https://orcid.org/0000-0002-9345-417X> ⁸<https://orcid.org/0000-0002-0332-0734>

*Sorumlu yazar e-posta: esavasli26@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 23.04.2020

Kabul: 22.02.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.726039

Anahtar kelimeler

Azot,

Buğday,

NDVI,

Optik sensör.

Öz: Bu çalışma, Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü arazisinde 2017-2019 yılları arasında yürütülmüştür. Çalışmada, Hat 30, Mesut, Nacibey ve Reis kışlık ekmeklik buğday çeşitlerinin kuru koşullar altında azot gübrelemesine verdikleri tepkiler, spektral yansıma dayalı bitki örtüsü indeksleri ve bu indekslerden hesaplanan Mevsimsel Verim Tahminleri ile karşılaştırılmıştır. Örtü indekslerinin ölçülmesinde Optik sensör (Green Seeker) kullanılmıştır. Denemede Tesadüf Bloklarında Faktöriyel Deneme Deseni ve 6 farklı 0, 30, 60, 90, 120 ve 150 kg/ha azot dozu kullanılmıştır. Vegetasyon indeksleri (NDVI) Zadoks24, Zadoks30, Zadoks31 ve Zadoks32 büyüme dönemlerinde okunmuştur. Zadoks30 (sapa kalkma dönemi) en gerçekçi okuma dönemi olarak bulunmuştur. 3 deneme ortalamasına göre yeni sistemin, ilkbahar (Zadoks30) dönemi uygulamalarında 15 kg/ha daha az azot ile benzer verim değerleri sağladığı ve ümit verici olduğunu görülmüştür. Sensör uygulamasının çiftçi uygulamasından % 5 daha etkin olduğu belirlenmiştir.

Nitrogen Fertilizer Recommendation with Optical Sensor for Bread Wheat Varieties

Article Info

Received: 23.04.2020

Accepted: 22.02.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.726039

Keywords

Nitrogen,

Wheat,

NDVI,

Optic sensor.

Abstract: This study was conducted at Transitional Zone Agricultural Research Institute in Eskişehir, in 2017-2019 growing seasons. In the study, responses of four winter wheat cultivars (Hat30, Mesut, Nacibey and Reis) to nitrogen fertilization under rainfed conditions were compared with vegetation indices based on spectral reflection and In- Season Estimates of Yield calculated from these indices. Optical -held sensor (Green Seeker) was used for this purpose. The experimental layout were used 0, 30, 60, 90, 120 and 150 kg N/ha nitrogen rates 2 factor factorial in randomized complete block design in the experiment. Vegetation indices (NDVI) were obtained at growth stages Zadoks24, Zadoks30, Zadoks31 and Zadoks32. Zadoks30 (stem elongation) was found to be the most realistic reading time. Based on the average of 3 experiment fields, the new system resulted in the similar yields with that of 15 kg/ha less nitrogen in the spring (Zadoks30) season, promising to be input saving and profitable. The sensor application was found to be 5% more effective than that of farmer application.

1. Giriş

Son yıllarda farklı bitki türlerinde sensörler yardımıyla geliştirilen kalibrasyon denklemleriyle azotlu gübre tavsiye sistemleri kullanılmaya başlanmıştır (Franzen ve ark., 2016). En uygun azotlu gübre tavsiyeleri belirlenirken hedeflenen verim ve çiftçilerin geçmiş tecrübeleri önemli rol oynamaktadır (Westfall ve ark., 1996). Optik sensör ile aynı verim seviyelerinde daha az azot kullanılarak ekonomik bir girdi sağlanırken aynı zamanda çevreye verilen zararda önemli ölçüde azaltılabilmektedir. Beklenen verimler iklimin durumuna göre, tarladan tarlaya ve yıldan yıla farklılık gösterebilmektedir. Büyüme mevsimin başlarında gübre uygulamasından önce verimin ve azota tepkilerin tahmin edilmesi zordur. Bu nedenle azot (N) eksikliklerini tespit etmek ve mevsim içi gübre tavsiyelerini belirlemek amacıyla optik sensörlerin kullanımı artmıştır (Jacob ve ark., 2018). Bu amaçla INSEY (In-Season Estimated Yield = Mevsim İçi Verim Tahmini) değerleri ile verim arasındaki ilişkiyi gösteren kalibrasyon eğrileri oluşturulmakta ve daha sonra, çiftçi tarlalarında yapılacak tavsiyelerin hesaplanmasında bu denklemlerden yararlanılmaktadır. Her bölge için geliştirilen kalibrasyon denklemleri çiftçi tarlalarında oluşturulan zengin şeritler (azotça zenginleştirilmiş) ile test edilmelidir.

Klorofil, bitkilerin yeşil renginden sorumlu pigmenttir ve fotosentezdeki ışığı yakalayan ve bitkide enerji üretimini belirleyen temel unsurdur (Araus ve ark., 1997). Optik sensörlerin kullanılmasında temel prensip buğdayda fazla veya yetersiz azotlu gübrelemede görülen yeşil renkteki klorofildeki değişimlere dayanmaktadır. Azot eksikliği, yaprak klorofil konsantrasyonlarında azalmaya neden olmakta (Peñuelas ve ark., 1993) ve Filella ve ark., 1995) yakın-kızılötesi yansımadaki azalmalara yaprak alan indeksi ve yeşil biyolojik kütledeki azalmaları göstermektedir (Jensen ve ark., 1990). Bitkilerin spektrumun kırmızı ve yakın-kızılötesi (near-infrared) bölgelerinde (farklı nanometre okumalarında) verdikleri yansıma değerleri karşılaştırılarak gelişme durumunu gösteren vejetasyon indeksleri elde etmeye dayanan optik sensörle azotlu gübre tavsiye sistemlerinde en yaygın olarak kullanılan Normalize Edilmiş Vejetasyon İndeks Farkı (NDVI) ve basit oran Simple Ratio (SR) olmaktadır (Aparicio ve ark., 2002). Yapılan çalışmalar kışık buğdayda optik sensör yansımalarının toplam bitki kütlesi (biyomas) ile yüksek korelasyon verdiği (Stone ve ark., 1996), sapa kalkma başlangıcında sensör yansıma değerleri aracılığıyla verim potansiyelinin belirlenebileceğini göstermiştir (Raun ve ark., 2002). Savaşlı ve ark., tarafından 2018 yılında yürütülen optik sensör çalışmalarında da erken dönem (ekim+kardeşlenme dönemi) azot uygulamalarının verim üzerine etkili olduğu bildirilmiştir. Bijay-Singh ve ark. (2013) ekimle ve iki kardeş döneminde azotlu gübre iki eşit dönemde 3 kg N/da olarak verildiğinde ve maksimum kardeşlenme dönemi öncesinde SPAD ve NDVI okumaları yapılarak elde edilen 0.005-0.011 INSEY değerleri arasında iken uygulanan azot ile maksimum verim artışı sağlandığı belirtilmiştir. Yürütülen başka çalışmalarda da klorofil konsantrasyonların belirlenmesinde SPAD-502 ve RGB görüntü işleme tekniklerin kullanılabileceği ifade edilmiştir (Odabaşı ve ark., 2015).

Bu çalışmada, son yıllarda kullanımı yaygınlaşan optik sensörler kullanılarak ekmeklik buğdayda kuru koşullar altında en yüksek tane verimini hedefleyen optimal azot tavsiyesi için geliştirilen kalibrasyon denklemleri ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Denemede, kuru koşullar için son yıllarda geliştirilen Reis, Mesut, Nacibey çeşitleri ve ileri kademe ümitvar Hat30 kullanılmıştır. “Tesadüf Bloklarında Faktöriyel Deneme Deseni” nde yürütülen denemede 0, 3, 6, 9, 12 ve 15 kg N/da azot seviyeleri karşılaştırılmıştır. Kardeşlenme dönemi (Zadoks 24), sapa kalkma başlangıcı (Zadoks30), sapa kalkma 1. boğumlu dönem (Zadoks31) ve sapa kalkma 2 .boğumlu dönem (Zadoks32) olmak üzere 4 farklı dönemde vejetasyon indeksi (NDVI) okumaları yapılmıştır (Zadoks,1974). Oklahoma Eyalet Üniversitesi uyguladığı yöntem ile azotun tamamı ekimle birlikte verilmiştir (Raun ve ark., 2002). Bunun gerekçesi, azotlu gübrenin uygulanması sonrasında bitki tarafından alınıp klorofil oranları üzerinde etkisini göstermesi için gereken süre ortalama 4-5 hafta olarak ifade edilmektedir. Böylece kalibrasyonu oluşturacak azot dozlarının tamamını ekimle birlikte uygulayarak, NDVI okumalarında beklenen karşılıkların oluşmaması ihtimalini ortadan kaldırmaktır. Bu amaçla azotlu gübre dozlarının tamamı ekimle birlikte uygulanmıştır. Yukarıda belirtilen nedenlerle, bu uygulama (ekim ile birlikte azotun tamamı) kalibrasyon denklemi oluşturma

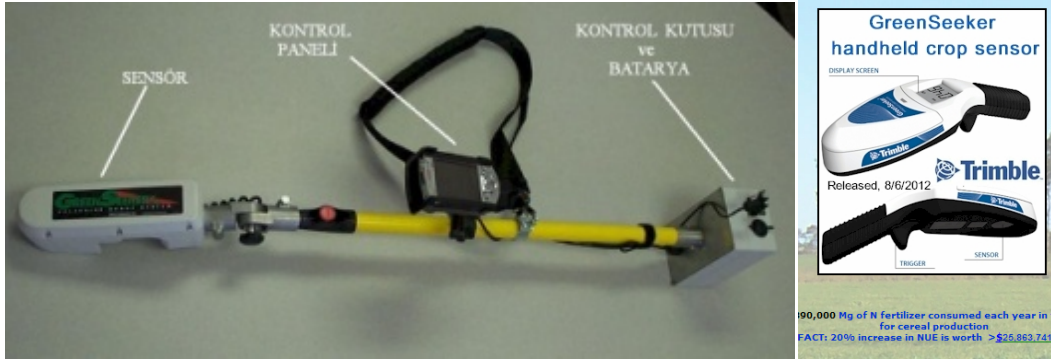
amacı ile kullanılmakta olup hiçbir koşul altında çiftçiye tavsiye edilecek bir yöntem olarak düşünülmemiştir.

2.1. Optik sensör ile bitki indekslerinin ölçülmesi

Optik sensör ölçüm cihazları (GreenSeeker, Ntech Handheld505) ile normalize edilmiş vejetasyon indeks farkı (NDVI) ölçümü yapılmıştır (Şekil 1). Sistem, spektral yansıma prensibine göre çalışmakta olup, bu değerleri değişik dalga boylarındaki yansımalar üzerinden hesaplamaktadır (Peñuelas ve ark., 1993). Optik sensör okumaları bitki örtüsünden 80 cm mesafeden ölçülmüştür. Cihazın ölçüm işleminde kullandığı Eşitlik,1'de gösterilmiştir.

$$NDVI = (R_{NIR} - R_{RED}) / (R_{NIR} + R_{RED}) \quad (\text{Raun et al. 2002})$$
$$NDVI = (R_{900} - R_{680}) / (R_{900} + R_{680}) \quad (1)$$

(Raun ve ark.,2002) bu denklemde, R_{NIR} ve R_{RED} , sırasıyla yakın kızılötesi ve kırmızı ışık bölgelerindeki yansımaları göstermektedir. İki değer arasındaki farkın, iki değer toplamına bölümü ise sensör tarafından hesaplanıp NDVI olarak verilmektedir.



Şekil 1. NTech, GreenSeeker Model505, spektrometre ve küçük el tipi optik sensör.

4 dönemde indeks değerlerinden hesaplanan vejetasyon indeksine dayalı karşılık indeksi değerlerinin, hasatta verim açısından elde olunan gerçek karşılık indeksleriyle arasında korelasyon çalışması yapılmış ve okuma tarihleri için hesaplanan INSEY değerleriyle hasatta elde olunan gerçek verim değerleri arasındaki ilişki den regresyon analizi sonucu kalibrasyon denklemleri hesaplanmıştır. Mevsim içi yansımaları kullanılarak, okuma anında azotça zengin şeridin NDVI değeri kontrol parsellerinin NDVI değerine bölünerek elde olunan değer de NDVI karşılık indeksi (RI_{NDVI}) olarak tanımlanmıştır ve bu iki indeks değeri arasında yüksek düzeyde korelasyon bulunduğu belirtilmektedir (Mullen ve ark.,2003). Buna göre, en yüksek dozda gübrelenen parsellerin verim değeri, diğer parsellerin verim değerlerine bölünerek elde olunan RI değerleri kalibrasyon denklemlerinin çiftçi tarlalarındaki uygulamalarında kullanılmıştır:

$$RI_{Verim} = \text{Verim}_{(uygulama)} / \text{Verim}_{(kontrol)} \quad (2)$$

Okumaların yapıldığı Zadoks skalasına göre tarif edilen gelişme dönemlerinin seçiminde, bu konuda en yaygın araştırmaları yapmış ve yapmakta olan, Oklahoma Üniversitesi uygulamaları ve tavsiyeleri göz önünde bulundurulmuştur (Raun ve ark.,2002). Bu dönemlerde yapılan NDVI okumalarında elde olunan NDVI değerleri, ekimden itibaren geçen ve buğdayın gelişebileceği bir baz değerinin (+4.4°C) üzerindeki gün sayısına bölünerek INSEY değerleri bulunmuştur (Raun ve ark.,2002).

Çizelge 1. Enstitüde ölçülen yağış miktarları (2016-2019)

YIL	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Toplam (mm)
Uzun yıl	14.4	27.0	29.2	45.1	38.7	32.5	33.4	35.0	44.8	30.6	14.0	7.8	352.4
2016-17	29.0	7.3	27.8	27.8	39.8	4.5	24.8	66.8	95.8	37.9	6.2	43.9	374
2017-18	0.5	48.4	28.6	41.8	29	41.6	41.1	9.5	92.5	73.8	60.1	14.6	482
2018-19	1.0	10.3	20.3	45.9	60.2	50.1	13.4	26.7	42.2	45.7	33.5	2.4	352

Çizelge 2. Deneme yerlerinden alınan toprakların kimyasal özellikleri (0-30cm)

Toprak özellikleri	Birimi	2017	2018	2019
		ENSTİTÜ	ENSTİTÜ	ENSTİTÜ
*Tekstür Sınıf		C	C	C
pH (1:2.5.Toprak:Su)		7.52	7.36	7.6
EC (Tuz) (1:5,Toprak:Su)	(µS/cm)	140	130	168
CaCO ₃ (Kireç)	(%)	9.6	13.5	9.2
Organik Madde	(%)	1.1	1.31	2.08
Fosfor (P)	mg/kg	32.1	8.39	20.6
Potasyum (K)	mg/kg	666.7	365.4	1043
Fenoldisülfonik Asit Metodu (NO ₃)	mg/kg	3.3	2.29	4.7

* C = Killi (Clay) 2017 YILI YKN1, 2018 YILI YKN2 VE 2019 YILI YKN3.

Çizelge 1'den de görüldüğü gibi 2017-18 yılında en yüksek yağış alınırken en düşük yağış ortalaması 2018-2019 yılında olmuştur. 2018-2019 yılında sonbahar yağışları düşük olması çıkışların gecikmesine neden olmuştur. Çizelge 2'de görüldüğü gibi deneme alanlarının toprak nitrat azotu düzeyleri düşüktür. Deneme yerleri seçilmeden önce örnek alınan tarlalardan bu özellikleriyle seçilmişlerdir. Deneme yeri topraklarının ince (killi) bünyeye ve düşük (%1-2) düzeyde organik madde içeriğine sahip olduğu da görülmektedir. Ayrıca deneme yeri toprakları orta (%5-15) ve fazla (%15-25) kireçli, hafif alkalin reaksiyonlu, düşük tuzlu veya tuzsuzdur. Toprak analizleri örnekleri kurutulmadan araziden alındığı nemde Bremner (1965) tarafından önerilen yöntemle NO₃ azotu analizleri yapılmıştır. Bu örneklerde elde olunan analiz sonuçlarından, deneme kurulan alanlara ait veriler Çizelge 2'de verilmiştir. Kuru koşullarda metrekarede 500 tohum sıklığında ekilmiştir. Denemeler parsel mibzeri (Wintersteiger) ile sıra arası 20 cm ve 6 sıra olarak ekilmiştir. Parsel alanı ekimde 1.2x7=8.4 metrekaresidir ve parsel alanının 1.2x5=6.0 metrekaresi parsel biçerdöveriyle (Hege-Wintersteiger) hasat edilmiştir.

Her ne kadar çalışmada çeşitlerin kendi kalibrasyon denklemleri kullanılmışsa da bölgede ekilen çeşit sayısının kalibrasyon çalışmasında kullanılan 4 çeşitten çok daha fazla olması ve her bir çeşit için ayrı kalibrasyon denemesi kurmanın zorluğu ve günümüzde sayıları giderek artan çeşit sayıları nedeni ile bu çalışmanın dışında yer alan çeşitlerin ekildiği tarlalarda yurtdışında olduğu gibi çeşitlerin ortalaması üzerinden elde olunan kalibrasyon denklemlerinin kullanılabilceği anlaşılmaktadır (Raun ve ark., 2005). Çünkü verim potansiyelinden kaynaklanan, azot etkilerinin verime yansıma düzeyi arasındaki farklılıklar zaten bu yöntem tarafından görülmekte ve hesaba katılmaktadır. Ayrıca mevsim içinde elde olunan okumalarla tahmin edilen biyolojik kütleyle ilişkin değeri doğrudan kullanmaya oranla, bu biyolojik kütle için ekimden itibaren birim zamandaki gelişmesini gösteren INSEY kavramının verim potansiyelini tahmin etmekte daha etkili olduğu bilinmektedir (Raun ve ark., 2002; Mullen ve ark., 2003).

Bu denemenin amacı, hasatta alınan verim karşılıklarının mevsim içi spektral yansıma okumaları ve bunlardan elde olunan vejetasyon indeksi değerleriyle hangi ölçüde uyumlu olduğunu belirlemek ve ilkbahar dönemi uygulanacak azot miktarının tavsiye edileceği denklemler elde etmektir. Demonstrasyon denemeleri: Azotlu gübre tavsiyesinde 2015-2018 yılları arasında TAGEM destekli yürütülen TAGEM/TBAD/12/A12/P01/07-002' nolu ve TAGEM/TBAD/16/A12/P01/004' nolu Eskişehir koşullarında azotlu gübre kalibrasyonu isimli TAGEM proje sonuçlarından elde edilen kalibrasyon denklemleri kullanılarak azotlu gübre tavsiyeleri yapılmıştır. Sensör uygulamasına dayalı

ve çiftçi uygulamasıyla karşılaştırmalı olarak azotça zengin şerit oluşturularak demonstrasyon çalışmaları yürütülmüştür.

Demonstrasyon çalışmasında 3 adet 3*7=21m²lik alana ekimle birlikte dekara 20 kg diamonyum fosfat gübre (3.6 kgN/da) uygulaması yapılmıştır. Zengin şerit olarak belirlenen ortadaki parsellere ilave olarak dekara 25 kg/da üre (11.4 kgN/da) gübresi ilave edilerek geleneksel çiftçi uygulamasında olduğu gibi tüm parsellerin ekimi deneme mibzeri ile yapılmıştır. (Şekil 4). Ekim öncesinde 15 kg N/da azotça zenginleştirilmiş 21 m² lik azotça noksan olmayan bir zengin şerit oluşturulmuştur. Zadoks30 (sapa kalkma) döneminde zengin şerit ve çiftçi uygulama kısmından NDVI okuması yapılmıştır.

2.2. Verilerin analizi

Verilerin istatistiksel analizi JMP istatistik programı (JMP, SAS Institute, Cary, NC) aracılığıyla ile yapılmıştır. Bağımsız değişkeni (INSEY) ve Bağımlı değişken ise verim olan her çalışmada yapılması gerektiği gibi, regresyon analizlerine başvurulmuştur. Araştırmadan elde edilen verilerin varyans analizleri yapılarak istatistiksel önemde bulunan uygulamalara ait ortalama değerler Duncan çoklu karşılaştırma testi ile gruplanmıştır (Düzgüneş ve ark., 1987).

3. Bulgular

3.1.Tane verimi

Kuru koşullarda 4 buğday çeşitlerinin farklı azotlu gübre uygulamalarında, verim ve bitkinin farklı Zadoks 24, 30, 31 ve 32 gelişme dönemlerinde verdikleri NDVI değerlerine ait varyans analiz sonuçları (kareler ortalamaları) Çizelge 3’de verilmiştir. Denemede elde edilen verim sonuçları Çizelge 4’de verilmiştir. Çizelge 4. incelendiğinde, yıllar açısından en yüksek verim 699 kg/da ile 2018 yılında alınırken 2017 yılında 647 kg/da ve 2019 yılında 278 kg/da ile en düşük verim elde edilmiştir. 2019 yılında sonbahar yağışların geç gelmesi ve çıkışların gecikmesi verim düşüşüne neden olmuştur. Azotlu gübrelemeye karşılık açısından tane verimleri değerlendirildiğinde 3 deneme ortalamasına göre en düşük verim 475 kg/da ile kontrolde olurken artan azot dozları ile tane verimi istatistiki olarak önemli artış olmuş, en yüksek 584 kg/da ile 15 kg N/da seviyesinde gerçekleşmiştir.

Çizelge 3. Kuru koşullarda 4 buğday çeşidinin farklı azotlu gübre uygulamalarında, verim ve Zadoks 24, 30, 31 ve 32 dönemlerinde okunan NDVI değerlerine ilişkin kareler ortalamaları ve istatistiksel önemlilikleri

Verim Kareler ortalaması						
Varyasyon kaynağı	SD	YKN1	YKN2	YKN3		
Çeşit (Ç)	3	294819**	145302**	248903**		
Azot (N)	5	93988*	83474**	330889**		
Ç*N	15	183554	148097**	73511*		
Hata	66	509840	228382	168709		
DK (%)		4.5	6.9	13.5		
Kareler ortalaması						
Varyasyon kaynağı	SD	Verim	NDVI ZD24	NDVI ZD30	NDVI ZD31	NDVI ZD32
YIL (Y)	2	5041513**	0.997365**	4.371476**	0.632711**	0.291292*
Çeşit (Ç)	3	216883**	0.005744	0.057043**	0.021462**	0.006799*
Azot (N)	5	77926**	0.140872**	0.096366**	0.105522**	0.080936**
Y*Ç	6	6397	0.012808**	0.032837**	0.009471**	0.004301
Y*N	10	11872**	0.066203**	0.038928**	0.048391**	0.031257**
Ç*N	15	15147**	0.006765**	0.003671	0.002757	0.002527
Y*Ç*N	30	177952	0.001772	0.002391	0.002940	0.003615*
Hata	199	906931	0.002434	0.002219	0.001983	0.002147
DK (%)		12.5	8.4	7.7	6.3	6.2

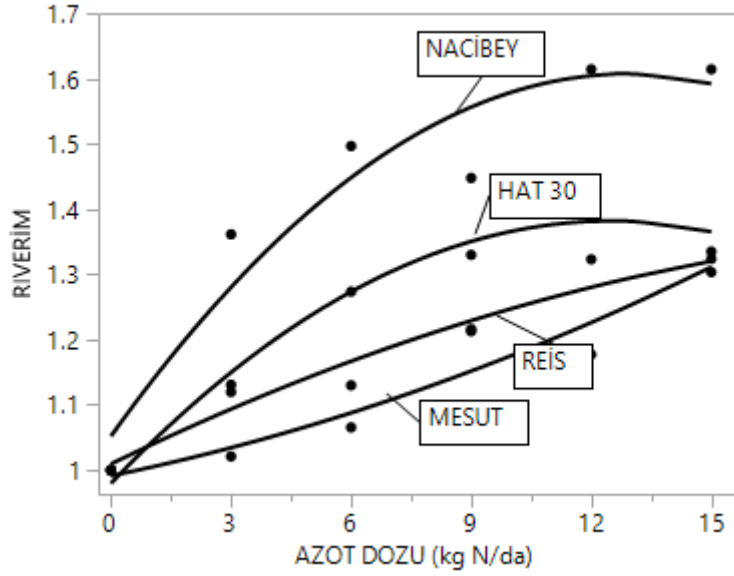
** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemlidir. * İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4. Kuru koşullarda azotlu gübre dozlarının yıllara ve buğday çeşitlerine göre tane verimlerine etkisi

Tane Verimi (kg/da) (YKN1) (2016-17)						
Azot Dozu (kgN/da)	HAT30	MESUT	NACIBEY	REIS	Ortalama	
0	622	587	546	604	590	b
3	627	599	702	561	622	ab
6	583	591	795	643	653	ab
9	702	573	804	623	675	a
12	664	639	759	596	665	a
15	702	579	809	613	676	a
Ortalama	650 B	594 C	736 A	607 BC	647	
Tane Verimi (kg/da) (YKN2) (2017-18)						
Azot Dozu (kgN/da)	HAT30	MESUT	NACIBEY	REIS	Ortalama	
0	649	650	600	674	643	c
3	686	678	720	643	682	bc
6	806	680	799	654	735	a
9	760	690	762	660	718	ab
12	695	623	846	664	707	ab
15	775	683	747	633	709	ab
Ortalama	729 A	667 B	746 A	654 B		
Tane Verimi (kg/da) (YKN3) (2018-19)						
Azot Dozu (kgN/da)	HAT30	MESUT	NACIBEY	REIS	Ortalama	
0	177	180	236	179	193	e
3	221	173	343	205	236	d
6	280	206	355	183	256	cd
9	329	281	305	228	286	c
12	362	256	437	274	332	b
15	418	337	441	278	368	a
Ortalama	298 B	239 C	353 A	224 C		
Tane Verimi (kg/da) 3 YIL (Birleştirilmiş Varyans Analiz)						
Azot Dozu (kgN/da)	HAT30	MESUT	NACIBEY	REIS		
0	483	472	460	486		
3	511	483	588	470		
6	556	492	650	493		
9	597	514	624	503		
12	574	506	681	511		
15	631	533	666	508		
Ortalama (ÇEŞİT)	559 <i>b</i>	500 <i>c</i>	611 <i>a</i>	495 <i>c</i>		
Azot Dozu (kgN/da)	2017	2018	2019	Ortalama (Doz)		
0	590	643	193	475	d	
3	622	682	236	513	c	
6	653	735	256	548	b	
9	675	718	286	560	ab	
12	664	707	332	568	ab	
15	676	709	368	584	a	
Ortalama verim(YIL)	647 B	699 A	278 C	541		

Aynı harfle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır.

Üç yıllık ortalamaya göre genotiplerden Nacibey (611 kg/da) en yüksek verimi vermiştir, onu sırasıyla Hat30 (559 kg/da), Mesut (500 kg/da) ve Reis (495 kg/da) çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4). Denemelerin verim ortalaması üzerinden çeşitlerin karşılaştırıldığı Çizelge 4 incelendiğinde ise, çeşitlerin azota verdikleri karşılık arasında farklılıklar olduğu ve bunun doğrudan doğruya çeşitlerin verim düzeyleriyle alakalı olduğu görülmektedir. Nacibey RI verim yönünden en yüksek karşılık verirken, en düşük RI verim Mesut çeşidinde olduğu görülmektedir (Şekil 2).



Şekil 2.Kuru koşullarda azotlu gübre dozlarının RI verim değerleri üzerine etkisi (3 yıl, 4 Genotip) RIVERİM.

3.2. NDVI değerlendirmeleri

Zadoks24, Zadoks30, Zadoks31 ve Zadoks32 elde olunan NDVI değerleri Çizelge 5’de verilmiştir. Çizelge 5’e bakıldığında 3 yıl ortalamaları değerlendirildiğinde dikkati ilk çeken, NDVI okuma dönemleri arasındaki gelişme farklılığının NDVI değerlerine yansımaları olmaktadır. En düşük NDVI değerleri sırasıyla 0.584 NDVI değeri Zadoks24, onu sırasıyla 0.608 NDVI Zadoks30 dönemi, 0.711 NDVI değeri Zadoks31 döneminde ve en yüksek Zadoks32 dönemindeki okumalarda ise 0.750 NDVI değeridir. Genotipler değerlendirildiğinde en yüksek Mesut (0.684 NDVI), onu sırasıyla Reis (0.664 NDVI) takip etmiş, Nacibey (0.654 NDVI) ve en düşük NDVI değerini Hat30 (0.652 NDVI) genotipinden olduğu görülmüştür (Çizelge 5). Sonuçta, 3 denemede ve 4 farklı gelişme döneminde artan azot dozu ile birlikte NDVI değerlerinde artış olduğu Çizelge 5’de görülmektedir. ABD’ de yapılan bir araştırma sonucunda da, 0.25’ in altındaki NDVI değerlerinin toprak yüzeyinin tam olarak kapanmamış olduğu anlamına geldiği, 0.25 ile 0.57 arasında azot ilavesinin yarar sağlayacağı, 0.73 değerinin ise ilave azottan yarar sağlanabilecek son düzey olduğu rapor edilmiştir (Raun ve ark., 2005).

Çizelge 5. Hat 30, Mesut, Nacibey ve Reis buğday çeşitlerinin farklı azotlu gübre uygulamalarında, Zadoks 24,30,31 ve 32 dönemlerinde verdikleri NDVI değerleri (3 yıllık ortalamalar)

ZADOKS Dönemler	HAT30	MESUT	NACİBEY	REİS	Ort.
NDVI ZD24	0.577 b	0.588 ab	0.577 b	0.595 a	0.584
NDVI ZD30	0.582 c	0.647 a	0.592 c	0.610 b	0.608
NDVI ZD31	0.699 b	0.736 a	0.701 b	0.709 b	0.711
NDVI ZD32	0.748 b	0.764 a	0.745 b	0.742 b	0.750
ORTALAMA	0.652	0.684	0.654	0.664	
Azot Dozu (kgN/da)	NDVI ZD24	NDVI ZD30	NDVI ZD31	NDVI ZD32	Ort.
0	0.505 e	0.543 e	0.640 e	0.685 e	0.593
3	0.549 d	0.570 d	0.675 d	0.720 d	0.628
6	0.579 c	0.604 c	0.709 c	0.753 c	0.661
9	0.611 b	0.637 b	0.734 b	0.765 bc	0.687
12	0.617 b	0.636 b	0.743 b	0.778 b	0.694
15	0.644 a	0.661 a	0.766 a	0.797 a	0.717
ORTALAMA	0.584	0.608	0.711	0.750	0.663

Aynı harfle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır.

3.1. Insey değerleri ve kalibrasyon denklemleri

Azotlu gübrelemenin değişik Zadoks gelişme dönemlerinde buğday çeşitlerinin İNSEY değerlerine etkisi Çizelge 6' da verilmiştir.

Çizelge 6. Kuruda kalibrasyon denemesinde azotlu gübrelemenin değişik dönemlerde İNSEY değerleri üzerine etkisi(3 yıl).

Azot Dozu (kg N/da)	HAT30	MESUT	NACİBEY	REİS	Ortalama
0	0.00567	0.00609	0.00577	0.00620	0.00593
3	0.00610	0.00640	0.00631	0.00626	0.00627
6	0.00661	0.00671	0.00662	0.00642	0.00659
9	0.00678	0.00726	0.00648	0.00685	0.00684
12	0.00672	0.00709	0.00682	0.00697	0.00690
15	0.00700	0.00738	0.00709	0.00705	0.00713
ORTALAMA	0.00648	0.00682	0.00651	0.00663	0.00661
Azot Dozu (kg N/da)	İNSEY ZD 24	İNSEY ZD 30	İNSEY ZD31	İNSEY ZD32	Ortalama
0	0.00586	0.00567	0.00609	0.00611	0.00593
3	0.00633	0.00591	0.00642	0.00641	0.00627
6	0.00666	0.00627	0.00674	0.00670	0.00659
9	0.00698	0.00661	0.00696	0.00681	0.00684
12	0.00705	0.00659	0.00706	0.00691	0.00690
15	0.00732	0.00685	0.00727	0.00708	0.00713
ORTALAMA	0.00670	0.00632	0.00675	0.00667	0.00661

Raun ve ark., (2001) yürüttükleri bir çalışmada mevsim içinde elde olunan okumalarla tahmin edilen biyolojik kütleye ilişkin değeri doğrudan kullanmaya oranla, bu biyolojik kütle için ekimden itibaren birim zamandaki gelişmesini gösteren İNSEY (In-Season Estimated Yield = Mevsim İçi Verim Tahmini) kavramının verim potansiyelini tahmin etmekte daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. İNSEY değerlerinin bağımsız, tane verimlerinin ise bağımlı değişken olarak kullanıldığı regresyon analizleri aracılığıyla kalibrasyon denklemleri hesaplanmıştır. NDVI değerlerinin her deneme için sabit bir gün sayısına bölünmesiyle bulunduğu için ayrıca istatistik analiz yapılmasına gerek kalmamış, bu nedenle her dönem için ayrı ayrı olmak üzere, İNSEY değerleri 3 deneme ortalaması olarak Çizelge 6'da verilmiştir. 3 denemenin verim ortalamaları kullanılarak hesaplanan kalibrasyon denklemleri aşağıda verilmiştir.

HAT 30

$$\text{ZADOKS24:VERİM(kg/da)}=13.8750+82156.21(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.78^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS30:VERİM(kg/da)}=-228.90+131113.09(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.91^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS31:VERİM(kg/da)}=-278.44+126276.4(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.90^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS32:VERİM(kg/da)}=-524.46+162763.1(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.91^{**}, n=6)$$

MESUT

$$\text{ZADOKS24:VERİM(kg/da)}=290.99+30974.76(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.87^*, n=6)$$

$$\text{ZADOKS30:VERİM(kg/da)}=232.93+39183.77(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.91^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS 31:VERİM(kg/da)}=179.44+45649.18(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.88^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS 32:VERİM(kg/da)}=62.09+64243.86(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.89^{**}, n=6)$$

NACİBEY

$$\text{ZADOKS24:VERİM(kg/da)}=-518.73+171160.97(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.82^*, n=6)$$

$$\text{ZADOKS30:VERİM(kg/da)}=-399.65+165553.08(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.87^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS31:VERİM(kg/da)}=-537.24+173298.62(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.89^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS32:VERİM(kg/da)}=-704.47+199388.09(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.95^{**}, n=6)$$

REİS

$$\text{ZADOKS24:VERİM(kg/da)}=240.51+36795.93(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.80^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS30:VERİM(kg/da)}=259.39+36661.82(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.78^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS31:VERİM(kg/da)}=231.74+38610.63(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.79^{**}, n=6)$$

$$\text{ZADOKS32:VERİM(kg/da)}=-192.71+45261.38(\text{İNSEY}) \quad (R^2=0.85^{**}, n=6)$$

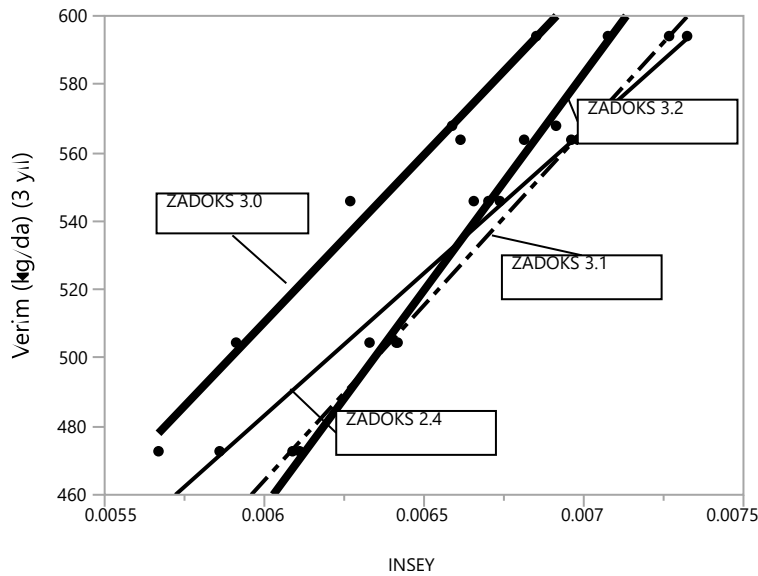
TÜM ÇEŞİTLERİN ORTALAMASI ÜZERİNDEN

ZADOKS24:VERİM(kg/da) = -16.342+83250.64(INSEY)	(R ² =0.988**,n=6	(3)
ZADOKS30:VERİM(kg/da)=-77.0084 +97906.5(INSEY)	(R ² =0.983**,n=6	(4)
ZADOKS31:VERİM (kg/da)= -150.44 +102440.6 (INSEY)	(R ² =0.993**,n=6	(5)
ZADOKS32:VERİM (kg/da)= -303.41 +126647.1(INSEY)	(R ² =0.993**,n=6	(6)

*%5,**%1 düzeyinde anlamlı

Bu denklemlerde ilk dikkati çeken durum, bütün çeşitler ve dönemler için INSEY değerleriyle verim arasında doğrusal ilişki bulunmuş olmasıdır. Tüm deneme ve çeşitler ortalamaları üzerinden elde edilen denklemlerde görüldüğü gibi (3,4,5 ve 6), denemelerin ve çeşitlerin ortalaması üzerinden değerlendirildiğinde, tüm okuma dönemleri 0,01 düzeyinde önemli determinasyon katsayıları elde edilmiştir. Ancak, tüm denemelerin ortalaması üzerinden yapılan bu değerlendirmeye bakılırken, erken gelişmenin çok zayıf olduğu bazı tarlalarda Zadoks24 döneminde yapılan okumalar yanıltıcı sonuçlar verebilir. Sonuç olarak, sapa kalkmadan sonra, tarlaya traktörle girmenin zorluğu ve taşıdığı risk te düşünülerek Zadoks 3.0 (sapa kalkma başlangıcı) döneminin bu sistem için kuruda da en uygun okuma/gübre tavsiye dönemi olduğuna karar verilmiştir. Yurt dışında da, NDVI değerinin 0.25 ve altında olduğu durumlarda verim tahminlerinin yanıltıcı olabileceğine dair bilgiler vardır (Raun ve ark., 2005). Yurt dışındaki çalışmalarda ise genellikle üslü transformasyon denklemleri kullanılmaktadır (Ji ve ark., 2017; Teal ve ark., 2006). Bizim değerlerimizle yaptığımız çalışmada da üslü transformasyonlar denenmiş ancak doğrusal regresyona üstünlük sağlamamıştır. Gerek yurt dışında ve gerekse yurtiçinde yapılan çalışmalarda kuru şartlar için azotlu gübre kalibrasyon denklemlerin elde edildiği bildirilmiştir.(Cekic ve ark., 2008; Walsh ve ark., 2018) Yurt dışı çalışmalarda elde olunan sonuçlarla aramızdaki bu farkın nedeni açık olmamakla birlikte, ABD'nin güneyinde yer alan Oklahoma ve Meksika'nın kuzeyinde bulunan Obregon'dan çok daha farklı bir iklim kuşağında bulunmamız buna neden olmuş olabilir. Sonuçta her bölge kendi kalibrasyon denklemleriyle çalışmak durumunda olduğuna göre, bizim için geçerli olan bu denklemler bölgemizdeki çiftçi tavsiyelerinde kullanılacaktır.

Diğer 3 dönem okumaları arasındaki determinasyon katsayısı farkları da önemli düzeyde olduğundan, çiftçi tarlalarındaki uygulamalar için Zadoks30 ve Zadoks31 dönemi en uygun bulunmuştur (Şekil 3). Sapa kalkma döneminde uygulanan azotun kışlık buğdayda gelişmeye en büyük etkiyi yaptığı belirtilmiş (Ali ve ark., 2020), aynı sonuca ulaşan (Melaj ve ark., 2003) bunu bu dönemin gelişme hızının maksimum olduğu dönem olmasına bağlamıştır. Ancak, erken gelişmenin ve kardeşlenmenin zayıf olduğu durumlarda, kardeşlenmeyi teşvik etmek için bir kısım azotun bu dönemden önce kullanılmasının yararlı olduğu da belirtilmektedir (Weisz ve ark., 2001).

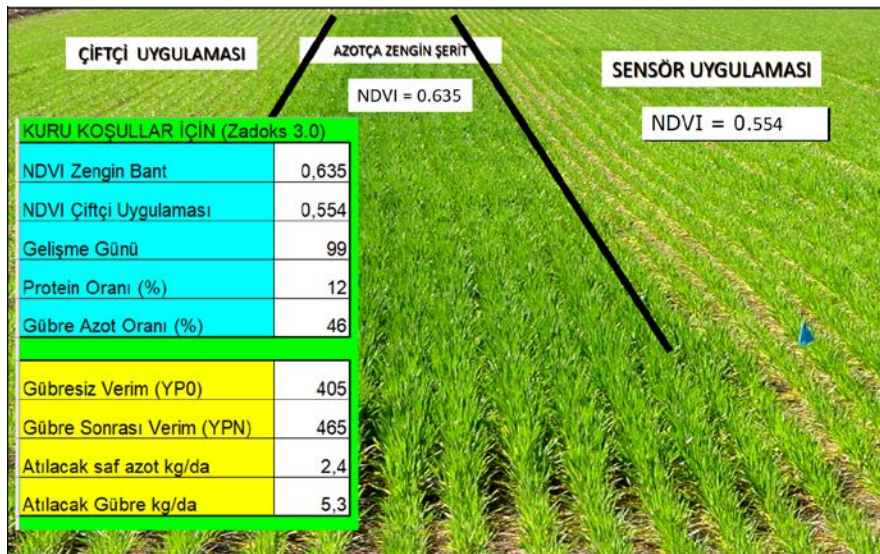


Şekil 3. Değişik okuma dönemlerinde hesaplanan INSEY değerleri ile verim ilişkisi.

Bu durumda en doğrusu, erken ilkbahar döneminde zayıf kardeşlenmeyle girilen durumlarda bir miktar azotun erken dönemde verilmesi, ancak erken ilkbahar döneminde normal kardeşlenmeyle giren çeşitlerde sapa kalkma başlangıcında yapılacak optik sensör okumalarına dayalı tavsiyelerin göz önünde bulundurulması olmaktadır. Buğday sapa kalktıktan ve boğumlar çıktıktan sonra, tarlaya traktörle girmenin zorluğu ve taşıdığı risk düşünülerek, Zadoks30 döneminin bu sistem için en uygun okuma dönemi olduğuna karar verilmiştir. Burada dikkat edilmesi gereken en önemli husus, okuma döneminde bitkinin hangi gelişme safhasında olduğunun iyi belirlenmesi olmaktadır. Bunu daha iyi açıklayabilmek için, değişik dönemlerdeki INSEY verim ilişkisi Şekil 3’ de grafik olarak gösterilmiştir. Şekil 3’ den de görüldüğü gibi, aynı INSEY değerleri daha erken dönemde hesaplandığı takdirde daha yüksek verim tahmin etmektedir. Bitkilerin aynı gelişme durumunu daha erken elde etmesinin daha yüksek verim tahmini anlamına gelmesi doğal olduğundan, okumanın yapıldığı dönemin çok iyi belirlenmesi ve hangi dönemde okuma yapılmışsa o döneme ait kalibrasyon denkleminin kullanılması ön koşul olmaktadır. Bu çalışmada çeşitler arası farklılık bu sistem açısından önemli bulunmamıştır. Verim düzeyleri ise zaten genotipten bağımsız olarak sensör tarafından tahmin edildiği için, çeşitler arasındaki genotipik farklar, verim düzeyindeki farklılara oranla önemsiz düzeyde kalmaktadır. Ancak çeşitler için söylenen bu durumun türler için de geçerli olacağını düşünmek yanlış olabilir. Nitekim Orta Anadolu ve Batı Geçit Bölgesi’nde yapılan bir çalışmada (Kalaycı ve ark., 1996) makarnalık buğdayların ekmekliklerden daha düşük azot kullanma etkinliğine sahip olduğu, yani aynı verim düzeyine ancak daha fazla gübre kullanımıyla ulaşabildikleri görülmüştür. Yılmaz ve ark., (2020), başka bir çalışmada ise azot uygulamalarının azot kullanım etkinliğini arttırdığı, azotun fizyolojik, agronomik ve alım etkinliği üzerine etkisinin önemli olduğu bildirilmiştir.

3.2. Demonstrasyon çalışmaları

Çalışma kapsamında sensör uygulamasına dayalı ve çiftçi uygulamasıyla karşılaştırmalı olarak azotça zengin şerit oluşturularak demonstrasyon çalışmaları yürütülmüştür. İlkbahar Zadoks 3,0 (sapa kalkma) döneminde zengin şerit ve çiftçi uygulama kısmından NDVI okuması yapılmıştır. Şekil 4’de örnek bir azotlu gübre tavsiyesinin nasıl yapıldığı açıklanmıştır. Buna göre mavi renkli alanın doldurulması gerekmektedir. Tarlanın zengin şerit kısmından yapılan NDVI okuması (örneğin 0.635) olsun azot tavsiye tablosuna kayıt edilir. Yine çiftçi uygulaması kısmı ise çiftçinin normal geleneksel uygulama yaptığı alandan bir NDVI okuması yapılarak (örneğin 0.554) tabloya kayıt edilir. Ekimden okuma tarihine kadar geçen gün (4.4 °C üstündeki gün sayısı) örneğin 99 gün olsun kayıt edilir. İlkbahar dönemi kullanılacak gübre çeşidi üre (%46’lık) olarak excel tablosuna yazılır. Hesaplamaların sonucu yukarıda verilen denklemlerden daha ayrıntılı olarak incelenebilir. Excel dosyasında denkleme göre azotlu gübre tavsiyesi yapılır. Örneğimizde 5.3 kg/da üre (%46’lık) uygulanması ile 465 kg/da verim alınabileceği görülmektedir.



Şekil 4. Ekim öncesi çiftçi tarlasında zengin şerit oluşturulması.

Tüm bu demonstrasyon çalışmasında okunan NDVI değerleriyle tavsiye yapılan azotlu gübre dozlarında alınan çiftçi uygulaması verimleri ve sensor uygulamasından alınan verimlere ve uygulanan azot değerlerine göre ekonomik analizler Çizelge 7'de verilmiştir. Çizelge 7'den de görülen ekonomik etkinlik hesaplanmasında, bu değerlendirmenin yapılmasında TMO'den elde olunan 2019 yılı resmi buğday alım fiyatları ile yine aynı dönemde piyasadaki %46'lık üre fiyatlarının ortalamaları kullanılmıştır(Anonim,2019). Borsa prim uygulamaları bundan daha yüksek olmakla birlikte borsadan borsaya ve alım mevsimine göre değişiklik gösterdiğinden TMO rakamları esas alınmıştır. Buna göre, söz konusu dönemde 1 kg ürenin ortalama fiyatı 2.5 TL, buğday alım fiyatı 1.33 TL olarak alınmıştır.

Çizelge 7. Çiftçi uygulaması (CU) ve sensör uygulamasının (NDVI) ekonomik değerlendirilmesi (2 yıl, 4 genotip)

Çeşit	Saf Azot (kgN/da)		Verim (kg/da)		Birim fiyat 1 kg/TL		GİDER(Güb.) (TL/da)		GELİR (ürün) (TL/da)		Protein %	
	CU	NDVI	CU	NDVI	saf N	buğ.	CU	NDVI	CU	NDVI	CU	NDVI
K1 HAT30	6.0	6.8	566	543	5.44	1.33	32.6	37.1	752	722	13.4	12.8
K1 MESUT	6.0	4.0	626	686	5.44	1.33	32.6	21.9	833	912	12.2	11.8
K1 NACİBEY	6.0	5.6	539	629	5.44	1.33	32.6	30.6	716	836	11.4	11.7
K1 REİS	6.0	4.9	408	473	5.44	1.33	32.6	26.8	543	630	-	-
K2 HAT30	6.0	4.3	519	584	5.44	1.33	32.6	23.2	691	777	13.1	13.4
K2 MESUT	6.0	5.0	373	312	5.44	1.33	32.6	27.0	497	415	14.2	13.8
K2 NACİBEY	6.0	4.8	676	649	5.44	1.33	32.6	25.9	899	864	13.2	13.0
K2 REİS	6.0	4.3	261	291	5.44	1.33	32.6	23.2	347	387	13.0	14.1
K3 HAT30	6.0	4.3	356	354	5.44	1.33	32.6	23.2	474	470	14.5	13.8
K3 MESUT	6.0	4.3	281	409	5.44	1.33	32.6	23.2	374	545	15.1	14.3
K3 NACİBEY	6.0	6.0	447	340	5.44	1.33	32.6	32.4	595	453	14.8	15.8
K3 REİS	6.0	6.5	382	395	5.44	1.33	32.6	35.2	508	525	13.7	14.4
K4 HAT30	6.0	2.3	237	463	5.44	1.33	32.6	12.5	316	615	14.3	13.2
K4 MESUT	6.0	4.7	624	440	5.44	1.33	32.6	25.5	830	585	14.6	13.9
K4 NACİBEY	6.0	2.3	567	520	5.44	1.33	32.6	12.5	754	691	13.9	14.5
K4 REİS	6.0	2.4	554	593	5.44	1.33	32.6	13.0	736	788	14.4	13.9
Ort.	6.0	4.5	464	480	5.44	1.33	32.6	24.6	617	638	13.7	13.6
Fark	1.5	-16	Kar(Gelir-Gider)	TL/da	584	614						
Sistem Kar Farkı(TL/da)								30				
ETKİNLİK(Sistem/Çiftçi)								1.05				

Demonstrasyonlar 4 çeşit ile tekerrüsus olarak yürütülmüştür. K:kuru demonstrasyon.

Daha öncede açıklandığı üzere çalışmanın yapıldığı yılın iklim koşullarının mevsim normallerinden çok farklı olmasına rağmen Çizelge 7'den de görüldüğü gibi sistem uygulaması (NDVI), çiftçi uygulamasına (CU) oranla ekonomik etkinlik yönünden %5'lik bir avantaj sağlamıştır. Bu avantajın iklim koşullarının mevsim normallerine yakın olduğu yıllarda daha yüksek olması beklenmektedir. Burada sensör uygulaması çiftçi uygulamasına göre dekara 1,5 kg saf azot daha az kullanılarak aynı verim ve protein oranının elde edildiği görülmektedir. Burada sistemin ekonomik yönü daha avantajlı olduğu belirlenmiştir. Singh ve Mohamed (2020) tarlalarda oluşturulan zengin şeritlerde optik sensör kullanılarak azotlu gübre tavsiyesi yapılabileceği bildirilmiştir. Ortiz-Monasterio ve Raun (2007) yürüttükleri çalışma sonuçlarına göre, çiftçi uygulamalarına kıyasla optik sensör uygulamalarıyla aynı verim düzeylerinde ortalama hektara 69 kg azot tasarruf sağlayabildiklerini bildirmiştir.

4.Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma kapsamında azotlu gübre tavsiyelerinde verim tahmini için kuru koşullarda kullanılan kalibrasyon denklemleri elde edilmiştir. Günümüzde sayıları iyice çoğalan çeşitlerin her biri için kalibrasyon çalışması yapmaya gerek olmadığını, Oklahoma ve Meksika'da olduğu gibi tüm çeşitlerin ortalaması üzerinden elde olunacak denklemlerin yeterli olduğunu görülmektedir. Yurt dışındaki çalışmalarda ise genellikle üslü transformasyon denklemleri kullanılmaktadır. Bizim

değerlerimizle yaptığımız çalışmada da üslü transformasyonlar denenmiş ancak doğrusal regresyona üstünlük sağlamamıştır.

Bu çalışmada ikinci önemli bulgu ise yılın bitki gelişme durumuna göre Zadoks31 döneminde optik sensör okumalarına göre azotlu gübre tavsiyesi yapılabileceği belirlenmiştir. Bu durum tarlaya girilebilecek son dönem olduğu için bitki gelişimi çok iyi takip edilerek hızlı ve iyi gelişim olduğu yıllarda ve yüksek NDVI alınan yıllarda Zadoks30 dönemi tercih edilirken bitki gelişiminin zayıf olduğu yıllarda ise Zadoks31 dönemi tavsiye edilebilir. Bu konudaki çalışmalar devam etmektedir. Kuruda ZADOKS30:VERİM(kg/da)=-77.008+97906.5*INSEY ($R^2=0.983^{**}$) uygun dönem olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak; erken gelişmenin çok zayıf olduğu bazı tarlalarda Zadoks24 (4 kardeşli) döneminde yapılan okumalar yanıltıcı sonuçlar verebilir. Bu nedenle Zadoks30 (sapa kalkma) dönemi bu sistem için kuruda da en uygun okuma/gübre tavsiye dönemi olduğuna karar verilmiştir. Yapılan demonstrasyon çalışmalarında optik sensör (NDVI) uygulaması çiftçi uygulamasına (CU) göre ilkbahar döneminde dekara 1,5 kg saf azot daha az kullanılarak aynı verim ve protein oranı elde edildiği belirlenmiştir. Sonuçta sensör uygulamasının çiftçi uygulamasında göre ekonomik etkinliği %5 daha fazla olmuştur.

Kaynakça

- Anonim. (2019). Toprak mahsülleri ofisi genel müdürlüğü <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/alim/201/2019alimfiyati.pdf>. Erişim Tarihi:07.04.2020.
- Ali, A.M., Ibrahim,S.M., & Singh, B. (2020).Wheat grain yield and nitrogen uptake prediction sing at Leaf and GreenSeeker portable optical sensors at jointing growth stage. *Information Processing in Agriculture*, (In press.) doi.org/10.1016/j.inpa.2019.09.008.
- Aparicio, N., Villegas, D., Araus, J.L., Casadesús, J., &Royo, C. (2002).Relationship between growth traits and spectral vegetation indices in durum wheat. *Crop Science*, 42(5), 1547–1555.
- Araus, J.L., Bort,J., Ceccarelli, S., & Grando, S. (1997)Relationship between leaf structure and carbon isotope discrimination in field grown barley. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35, 533–541.
- Bijay-Singh, Varinderpal-Singh, Yadvinder-Singh, Thind, H.S., Ajay-Kumar, Satinderpal-Singh, Choudhary, O.P., Gupta, R.K., & Vashistha, M. (2013). Supplementing fertilizer nitrogen application to irrigated wheat at maximum tillering stage using chlorophyll meter and Optical Sensor.*Agricultural Research*, 2(1), 81–89.
- Bremner, J.M. (1965). Nitrogen Ed.: C.A. Black. Ed: Method of soil analysis. part: ii. chemical and microbiological properties. Agronomy Series. No:9. Agronomy Inc. Madison. Wisconsin.USA
- Cekiç, C., Savasli, E. Onder, O., Dayıoglu, R., Gokmen, F., Dursun, N., & S, Gezgin. (2008 Ekim). *Bitkilerin azot kullanma etkinliğini artırmada mevsim içi azotlu gübre yönetiminin önem. i 4. Ulusal bitki besleme ve gübre kongresi*, Konya.(s. 83).
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., & F. Gürbüz. (1987). Araştırma ve deneme metodları (istatistik metodları 11.). *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi* yayın no:1021, 295s, Ankara.
- Filella,I., Serrano, L., Serra, J., & Penuelas, J. (1995). Evaluating wheat nitrogen status with canopy reflectance indices and discriminant analysis.*Crop Science*, 35(5),1400–1405.
- Franzen, D., Kitchen, N., Holland, K., Schepers, J., & Raun, W. (2016). Algorithms for in-season nutrient management in cereals. *Agronomy Journal*, 108(5), 1775–1781.
- Jacob T., Bushong, Jeremiah L. Mullock,D. Brian, Arnall & Raun, WR.,(2018). Effect of nitrogen fertilizer source on corn (*Zea mays* L.) optical sensor response index values in a rain-fed environment. *Journal Of Plant Nutrition*, 41, 1172-1183.
- Jensen, A., Lorenzen, B., Østergaard, H.S., & Hvelplund, E.K. (1990). Radiometric estimation of biomass and nitrogen content of barley grown at different nitrogen levelsf. *International Journal of Remote Sensing*, 11(10), 1809–1820.
- Ji, R., Ju, M., Wang, Y., Hu, C., Zhang, H., & Shi, W. (2017).In-season yield prediction of cabbage with a hand-held active canopy sensor. *Sensors (Switzerland)*, 17(10), 1–14.
- JMP. (2014). Scintilla-Copyright (C) 1998-2014 by Neil Hodgson;neilh@scintilla.org SAS Institute. JMP 13.0 Users Guide. Carry, NC: Release SAS Institute Inc
- Kalaycı, M., Kaya, F., Aydın, M., Özbek, V., & Atlı, A. (1996).Batı geçit bölgesi koşullarında buğdayın verim ve dane protein kapsamı üzerine azotun Etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, (20), 49–59.

- Melaj, M.A., Echeverría, H.E., López, S.C., Studdert, G., Andrade, F., & Bárbaro, N.O. (2003). Timing of nitrogen fertilization in wheat under conventional and no-tillage system. *Agronomy Journal*, 95(6), 1525–1531.
- Mullen, R.W., Freeman, K.W., Raun, W.R., Johnson, G.V., Stone, M.L., & Solie, J.B. (2003). Identifying an in-season response index and the potential to increase wheat yield with nitrogen. *Agronomy Journal*, 95(2), 347–351.
- Odabas, M., Bajwa, S., Lee, C., Maraş, E. (2015). The prediction of saint john's wort leaves' chlorophyll concentration index using image processing with artificial neural network. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25 (3), 285-292. doi: 10.29133/yyutbd.236409
- Ortiz-Monasterio, J.I., & Raun, W.R., 2007. Reduced nitrogen for improved farm income for irrigated spring wheat in the Yaqui Valley, Mexico, using sensor based nitrogen management. *Journal Agricultural Science*, (145), 215–222.
- Peñuelas, J., Gamon, J.A., Griffin, K.L., & Field, C.B. (1993). Assessing community type, plant biomass, pigment composition, and photosynthetic efficiency of aquatic vegetation from spectral reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 46(2), 110–118.
- Raun, W.R., Solie, J.B., Johnson, G.V., Stone, M.L., Lukina, E.V., Thomason, W.E., & Schepers, J.S. (2001). In-season prediction of potential grain yield in winter wheat using canopy reflectance. *Agronomy Journal*, 93(1), 131–138.
- Raun, W.R., Solie, J.B., Stone, M.L., Martin, K.L., Freeman, K.W., Mullen, R.W., Zhang, H., Schepers, J.S., & Johnson, G.V. (2005). Optical sensor-based algorithm for crop nitrogen fertilization. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36(19–20), 2759–2781.
- Raun, William R, Solie, J.B., Johnson, G.V, Stone, M.L., Mullen, R.W., Freeman, K.W., Thomason, W.E., & Lukina, E.V. (2002). Improving nitrogen use efficiency in cereal grain production with optical sensing and variable rate application. *Agronomy Journal*, 94, 815–820.
- Savaşlı, E., Önder, Ö., Çekiç, C., Kalaycı HM., Dayıoğlu, R., Karaduman, K., Gökmen, F., Dursun, N., & Gezgin, S. (2018). Sulu şartlarda ekmeklik buğdayda başaklanma döneminde yaprak solüsyon uygulamasının tane protein kapsamı üzerine etkisi. *Türk Tarım–Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(1), 84-90.
- Singh, Bijay & Mohamed, Ali. (2020). Using hand-held chlorophyll meters and canopy reflectance sensors for fertilizer nitrogen management in cereals in small farms in developing countries. *Sensors*. 20.10.3390/s20041127.
- Stone, M.L., Solie, J.B., Raun, W.R., Whitney, R.W., Taylor, S.L., & Ringer, J.D. (1996). Use of spectral radiance for correcting in-season fertilizer nitrogen deficiencies in winter wheat. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 39(5), 1623–1631.
- Teal, R.K., Tubana, B., Girma, K., Freeman, K.W., Arnall, D.B., Walsh, O., & Raun, W.R. (2006). In-season prediction of corn grain yield potential using normalized difference vegetation index. *Agronomy Journal*, 98(6), 1488–1494.
- Weisz, R., Crozier, C.R., & Heiniger, R.W. (2001). Optimizing nitrogen application timing in no-till soft red winter wheat. *Agronomy Journal*, 93(2), 435–442.
- Westfall, D.G., Havlin, J.L., Hergert, G.W., & Raun, W.R. (1996). Nitrogen management in dryland cropping systems. *Journal of Production Agriculture*, 9(2), 192–199.
- Walsh, O., S., Shafian, S., & Christiaens, R.J. (2018). Evaluation of Sensor-Based Nitrogen Rates and Sources in Wheat. *International Journal of Agronomy*.
- Yılmaz F, Hamurcu M, Gezgin S. (2020) Determination of nitrogen use efficiencies of some bread wheat grown in the central anatolia region. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(4): 689-695.
- Zadoks, J.C., Chang T.T., & Konzak, C.F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14, 415.



Araştırma Makalesi (Research Article)

Molecular Evaluations and Genetic Divergence of *Erynnis tages* and *Erynnis marloyi* (Lepidoptera, Hesperiiidae) Based on mtCOI Gene with Turkey Populations

Sibel KIZILDAĞ*¹

¹Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Science, Department of Biology, Van, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0003-0182-5154>

*Corresponding author e-mail: sibelkizildag@yyu.edu.tr

Article Info

Received: 08.07.2020

Accepted: 24.02.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.766796

Keywords

Barcode,

Erynnis,

Phylogeny,

Genetic variation,

Turkey.

Abstract: *Erynnis tages* and *Erynnis marloyi* were known as European species until recent years. Due to their narrow distribution areas, the morphological similarities of the two species were very high, and their status was controversial. However, as the records of these species came from the new regions, their distribution areas turned out to be wide, contrary to what is known. With the mtCOI gene barcode, there was a chance to identify genetic variations hidden between inter-species and intra-species. The present study was the first time the barcode characterization of populations in Turkey and other registered population of barcodes with the genetic variation were assessed. Phylogenetic trees based on mt COI gene sequences were created using Neighbor-joining, Bayesian inference, and maximum-likelihood algorithms. Genetic divergence was confirmed by Automatic Barcode Gap Analysis using the Kimura 2 parameter. It is genetically confirmed that *E.tages* and *E.marloyi* are two distinct species independent from each other. *E.tages* population of Turkey was found genetically similar to that of the population belonging to southern Italy. Southern Russia was also genetically similar. However, *E. marloyi* Turkey's population was genetically similar to the population of Iran.

Türkiye Populasyonlarıyla mtCOI Genine Dayalı *Erynnis tages* ve *Erynnis marloyi*'nin (Lepidoptera, Hesperiiidae) Moleküler Değerlendirmeleri ve Genetik Divergensi

Makale Bilgileri

Geliş: 08.07.2020

Kabul: 24.02.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.766796

Anahtar kelimeler

Barkod,

Erynnis,

Filogeni,

Genetik varyasyon,

Türkiye.

Öz: *Erynnis tages* ve *Erynnis marloyi* son yıllara kadar Avrupa türleri olarak bildirilmiştir. Dar yayılış alanları nedeniyle bu iki türün morfolojik benzerlikleri çok fazla olmasından dolayı tür statüleri tartışma konusu olmuştur. Ancak yeni bölgelerden bu türlere ait kayıtlar geldikçe yayılış alanlarının bilinenin aksine geniş olduğu ortaya çıkmıştır. mtCOI gen barkodu ile türler arası ve tür içi gizlediği genetik varyasyonları da belirleme şansı yakalanmıştır. Sunulan çalışmada ilk kez Türkiye populasyonlarının barkod karakterizasyonu yapılmış ve diğer kayıtlı populasyonların barkodları ile genetik varyasyonları değerlendirilmiştir. mt COI gen dizilerine dayanan filogenetik ağaçlar, Komşu birleştirme, Bayesian çıkarım ve Maksimum Olabilirlik algoritmaları kullanılarak oluşturulmuştur. Genetik varyasyon Kimura-2-parametresi kullanılarak Otomatik Barkod Boşluğu Bulma analizleriyle onaylanmıştır. *E.tages* ve *E.marloyi*'nin birbirinden bağımsız iki farklı tür olduğu genetik olarak doğrulanmıştır. *E.tages*'in Türkiye populasyonu ile Güney İtalya ve Güney Rusya populasyonları ve *E. marloyi*'nin Türkiye populasyonu ile de İran populasyonu genetik olarak çok benzediği görülmüştür.

1. Introduction

The genus *Erynnis* (Schrank, 1801), also known as the dusky-wing butterflies of the Hesperidae family, includes more than 27 species. According to current data records, there is the highest number of species in Nearctic (Zakharov et al., 2009). However, new records and species descriptions are also available in Neotropics and Palearctic in recent years. Among the members of this genus, the two are morphologically similar species that have long been known as European butterflies. These contain minor differences in darker color tones Dingy Skipper for *Erynnis tages* (Linnaeus, 1758) and Inky Skipper for *Erynnis marloyi* (Boisduval, 1834) with states of out-morphology (Mazzei et al., 1999). Species boundaries and variations between populations of the two morphologically very similar species could not be evaluated in detail due to habitat restrictions. Recently, the new data regarding the distribution area of these two species (with new records coming from different geographies), necessitates the assessments at the species and population levels. New records have been reported belonging to Turkey, Lebanon, southern Iran, Armenia, and Pakistan (Koçak and Kemal, 2011).

With the advanced development of molecular biology techniques in the last decade, it has become applicable in systematic and taxonomic studies for tests of taxonomic characterization with molecular characters. A genetic identity (DNA barcodes) for the organism is created using short DNA regions. It is the Mitochondrial Cytochrome Oxidase I (mtCOI) gene region that shows both intra-species variations and species-level variations most reliably for butterflies. The non-overlapping nature of mutations in the populations and species-level of this gene region have made it the most suitable molecular character in determining inter-species and intra-species categories. Particularly morphologically similar species, cryptic species, and diagnostic (phenotypic plasticity) features are suitable for determining hidden taxa and also phylogeny estimations (Li et al., 2011; Mitchell and Gopurenko, 2016; Wang et al., 2018).

Nowadays, the butterfly taxonomy has been shaped according to the barcode information of different populations from different geographies with an understanding of the importance of barcoding. In this study for the first time Turkey's populations of *Erynnis tages* and *Erynnis marloyi* were barcoded and determined genetic diversity and species boundaries were determined with the other registered populations.

2. Materials and Methods

The butterfly specimens of both species were collected in 2016 from Bahçesaray-Mukus valley (Van, Turkey) by Muhabbet Kemal and Ahmet Ömer Koçak and stored in the Entomological Research Center Ankara (Cesa) Collection.

The legs of the *Erynnis* specimens were washed with ethanol. The RED Extract-N-Amp Tissue PCR Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) was used to purify Total Genomic DNA (tgDNA) (Kemal et al., 2018). PCR reaction was performed using LepF1 and LepR1 primers to amplify a 658 bp fragment of mt-COI gene from tgDNA. The PCR products were sent to Macrogen (Macrogen, Amsterdam, Netherlands) for bidirectional sequencing.

The other population's barcodes were retrieved from GenBank (Anonymous, 2020b) and BOLDsystem (Anonymous, 2020a) database for determination of variations between *E.tages* and *E.marloyi* species. *E.brizo* species was used as outgroup and a total of 85 barcodes were used for phylogenetic analysis.

Genetic distances between populations and species were calculated using the Kimura 2-parameter distance model (Kimura, 1980). The aligned DNA barcodes by MEGA 7.0 software were separated into hypothetical species using Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) method with a prior P that ranges from 0.005 to 0.1 and the K2P model with the default settings (Anonymous, 2020c). The neighbor-joining (NJ) tree was constructed using the Kimura 2-Parameter distance model in MEGA 7.0 software. Maximum-likelihood (ML) bootstrapping analyses were achieved with 1000 replicates using RAxML Blackbox on XSEDE v.8.2.4 (Stamatakis et al., 2008) on the CIPRES Science Gateway. A Bayesian inference (BI) analysis was performed in MrBayes 3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) with the Markov chain Monte Carlo algorithm. The program JModeltest v.2.1.7 (Posada, 2008) selected the TIM2+I evolutionary model as the best model according to the Akaike

information criterion for Bayesian inference. The program was run for 5 000 000 generations, with a sample frequency of 100 and a burn-in of 12 500.

3. Results

The aligned 85 COI fragments have the full barcode length. *E. marloyi* and *E. tages* barcodes have 31 variable sites (4.71%), of which 20 (3.03%) have parsimony informative. The most variation was determined at the first codon position. AT-deviation was high in the first position with an average AT-base pairs of 93.9% (Table 1).

Table 1. Barcode characterizations of the mtCOI gene in *E. tages* and *E. marloyi* populations

Nucleotide Position	Variable Site (%)	Informative Site (%)	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	AT (%)	GC (%)
1st	83.7	69.5	47.0	5.2	46.9	0.5	93.9	5.7
2nd	9.6	27.6	29.0	14.2	30.6	26.0	59.6	40.2
3rd	6.4	5.1	43.0	25.1	15.5	16.0	58.5	41.1
All	4.7	95.2	40.0	14.8	31.0	14.1	71.0	28.9

According to Kimura -2-parameter, the genetic distance between *E. tages* and *E. marloyi* was 2.98%. When the genetic distances of the two species at the intraspecies levels are evaluated, the genetic difference of Turkey's population compared with other populations of *E. tages* ranged from 0.46% at -1.23%. In addition genetic distance between populations of *E. marloyi* obtained from Turkey and Iran was 0.30%. Inter-species and intra-species variations were also determined as histogram and graphics with ABGD using the K2P model (Figure 1). According to ABGD analysis results, *E. tages* includes 5 intraspecific sections and *E. marloyi* 4 intraspecific sections (Figure 1). The cladistic analysis in the presented phylogenetic tree were compatible with ABGD results (Figure 2).

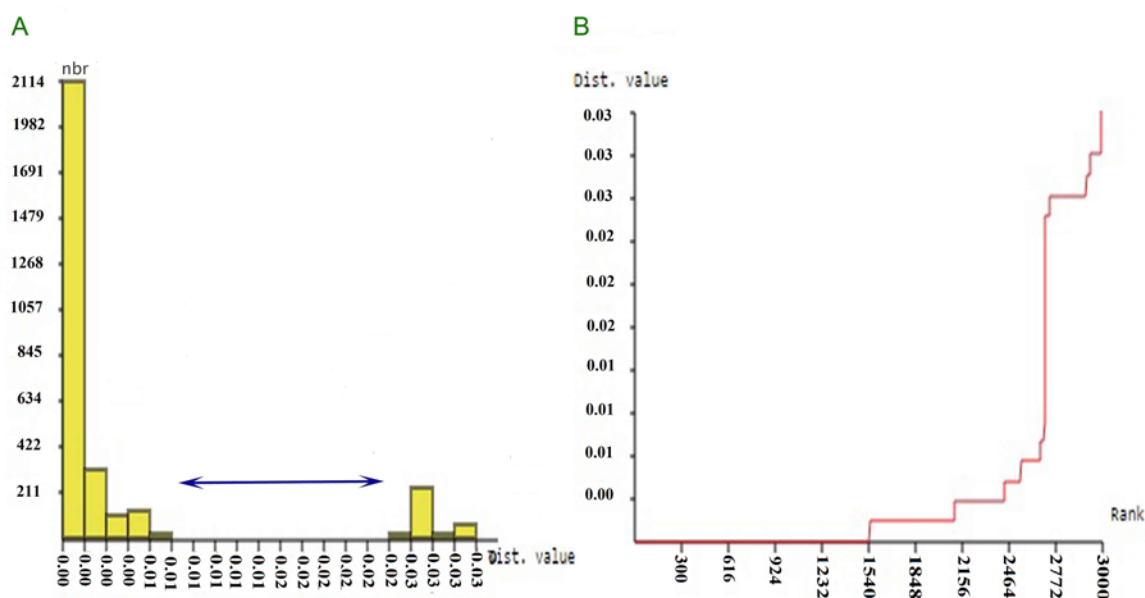


Figure 1. Histogram of pairwise K2P distances of 79 (except outgroup) aligned sequences (A) and ranked distances of two species (B).

The support values are shown on the NJ tree since the phylogenetic tree constructed with the NJ /BI/ML algorithms showed similar topology (Figure 2). Both species were phylogenetically separated based on strong values (NJ/BI/ML; 100/1.00/91). It has been shown that, Turkey's

population with Russian-EZHBA473-07/74-07 (the genetic distances 0.61%) and Italian BIBSA1360/MN141295 populations (the genetic distance value 0.46%) of *E. tages* were clustered in the same sub-clade and, Spanish-EZSPC1139-10/HM901339 (the genetic distance value 0.92%), British-OXB248-15/MN139663 (the genetic distance value 0.92%) and Irish-WMB4030-14/MN145401 (the genetic distance value 1.23%) populations have a sister position within the sub-clade.

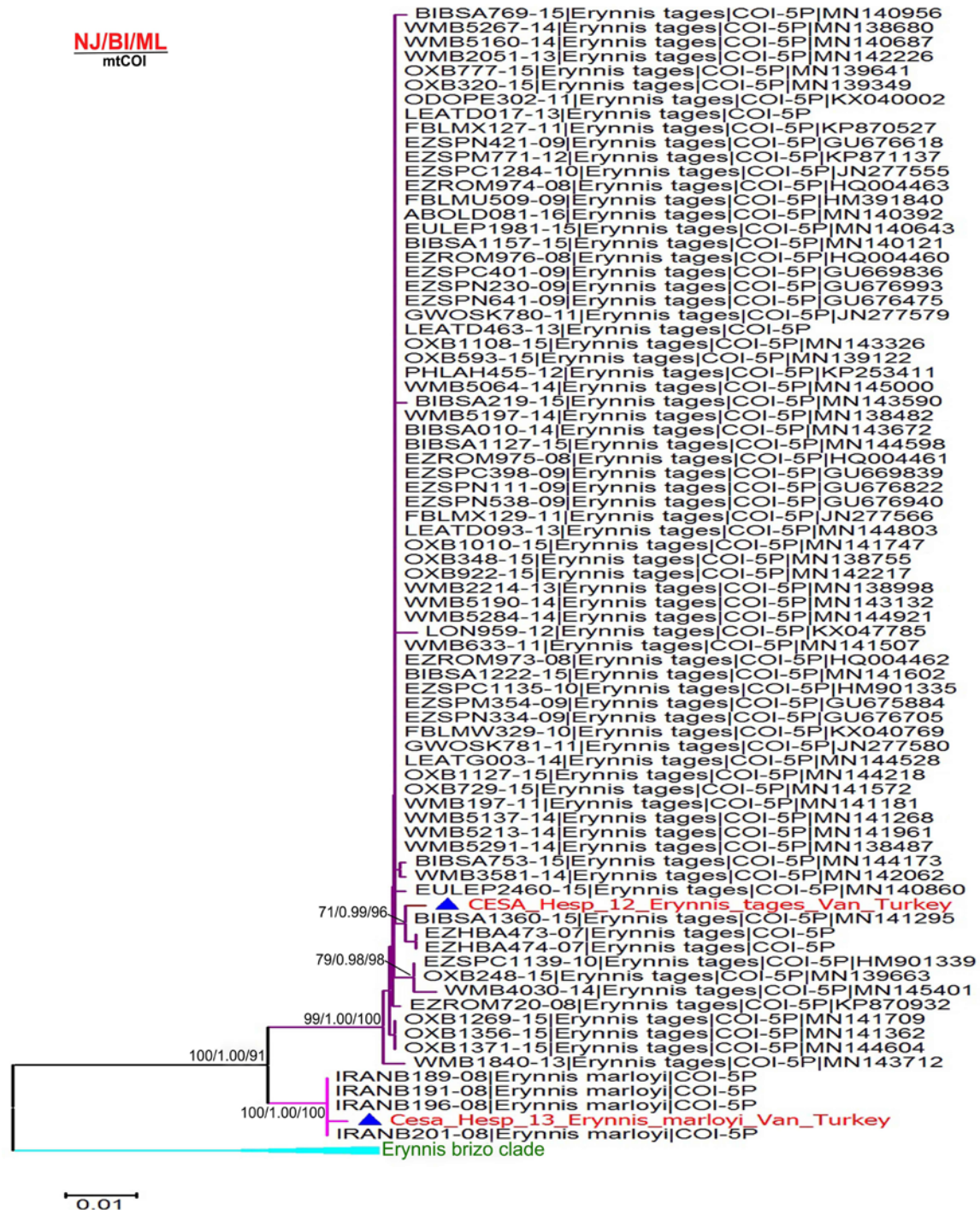


Figure 2. The phylogenetic tree based on mtCOI gene sequences of *E. tages* and *E. marloyi* populations. Numbers at the nodes indicate the NJ bootstrap values, the BI posterior probability and the ML bootstrap values. Bar, 1 substitutions per 100 nucleotide positions.

4. Discussion and Conclusion

Species that share close or common habitats may show similar morphological characteristics, depending on phenotypic plasticity, regional adaptation, or coevolution mechanisms (Forsman, 2015). Therefore, the phenotypes of these species in the ecosystem can mask true diversity. The best way to solve such a species problem is to identify the population units available. If the distribution areas of the species are known, adaptation to different environments and genetic variations can be revealed. Thus, it provides an understanding of the morphological, phylogenetic, and even ecological separation between closely related species obtained from different geographies. In recent years, with the development of molecular biology, the concept of species identification based on ecological species and genes has been revising taxonomy established by morphological characters. In particular, the mtCOI gene offers very successful distinctions at the species and intraspecies levels in Lepidoptera (Lassance et al., 2019). In this study, to determine species delimitation of *E. tages*, for the first time genetic distances of Europe, Russia, and Turkey populations were compared by adding new data. According to the results of the presented phylogenetic analysis, the populations of southern Italy and southern Russia were closest to the population of Turkey and the farthest was the Irish population. When the genetic distance variability between *E. tages* populations is supported by morphological characters, subspecies can be suggested for some populations.

The population records of *E. marloyi* from Southeast Europe and Turkey, Lebanon, Iran to South Pakistan are available. However, only the barcodes of Iranian populations have been made and recorded until this study. In the present study, was compared only the genetic barcodes of Iran and Turkey populations because there was not any barcode record in Genbank or Bolddsystem for the populations reported from the mentioned geographies. The genetic distance between *E. marloyi* populations obtained from very close geographies (Kermanshahan / Iran and Van / Turkey) was quite low. Molecular data from a large number of different geographies is needed to determine a reliable variation.

In this study, Turkey's populations of *E. tages* and *E. marloyi* were firstly barcoded and made genetic distance analysis. Two species were evaluated used the tree-based method for phylogenetically delimiting species. According to the molecular analysis results, *E. tages* and *E. marloyi* are morphologically similar but genetically distant (at the species level) that is, whose are two distinct species. As the information about the spreading areas of these species increases, it will be easier to understand phylogenetic relationships and biodiversity.

Acknowledgment

Special thanks are given to Prof. Dr. Ahmet Ömer KOÇAK and Dr. Muhabbet KEMAL for their continuous help, comments, and use of the Cesa Collection. This work was supported by the Research Council of Van Yüzüncü Yil University (YYUBAP, Project No.: FAP-2019-8230), Van, Turkey.

References

- Anonymous. (2020a). Barcode Of Life Data System (BOLDSYSTEMS). <http://www.boldsystems.org/index.php>. Date of access: 9 Jun 2020.
- Anonymous. (2020b). National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=Erynnis+COI>. Date of access: 9 Jun 2020.
- Anonymous. (2020c). Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD). <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>. Date of access: 20 Jun 2020.
- Forsman, A. (2015). Rethinking phenotypic plasticity and its consequences for individuals, populations and species. *Heredity*, 115, 276–284.
- Kemal, M., Yıldız, İ., Kızıldağ, S., Uçak, H. & Koçak, A. Ö. (2018). Taxonomical and molecular evaluation of *Apochima agassiz* in East Turkey, with a description of a new genus (Lepidoptera, Geometridae, Ennominae). *Miscellaneous Papers*, 169, 1–14.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–120.

- Koçak, A. Ö. & Kemal, M. (2011). Notes on the Insecta in the Collection of the Cesa Lepidoptera of Turkey-I. *Cesa News*. 66, 1-37.
- Lassance, J. M., Svensson, G. P., Kozlov, M. V. Francke, W. & Löfstedt, C. (2019). Pheromones and Barcoding Delimit Boundaries between Cryptic Species in the Primitive Moth Genus *Eriocrania* (Lepidoptera: Eriocraniidae). *Journal of Chemical Ecology*. 45, 429–439.
- Li, Q., Li, D., Ye, H., Liu, X., Shi, W., Cao, N. & Duan, Y. (2011). Using COI Gene Sequence to Barcode Two Morphologically Alike Species: The Cotton Bollworm and the Oriental Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecular Biology Reports*. 38(8), 5107-5113.
- Mazzei, P., Morel, D. & Panfili, R. (1999) Moths and Butterflies of Europe and North Africa. <https://www.leps.it/indexjs.htm?SpeciesPages/ErynnMarlo.htm>. Date of access: 9 Jun 2020
- Mitchell, A. & Gopurenko, D. (2016). DNA Barcoding the Heliethinae (Lepidoptera: Noctuidae) of Australia and Utility of DNA Barcodes for Pest Identification in *Helicoverpa* and Relatives. *PLoS One*. 11(8), e0160895.
- Posada D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology Evolution*, 25 (7), 1253–1256.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572–1574.
- Stamatakis, A., Hoover, P. & Rougemont, J. (2008). A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. *Systematic Biology*, 57(5), 758–771.
- Wang, R., Zhang, Z., Hu, X., Wu, S., Wang, J. & Zhang, F. (2018). Molecular Detection and Genetic Diversity of Casuarina Moth, *Lymantria Xylina* (Lepidoptera: Erebidae). *Journal of Insect Science* 18(3), 21–29.
- Zakharov, E. V., Lobo, N. F., Nowak, C. & Hellmann, J. J. (2009). Introgression as a likely cause of mtDNA paraphyly in two allopatric skippers (Lepidoptera: Hesperidae). *Heredity*. 102, 590–599.



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Science

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



Araştırma Makalesi (Research Article)

Effects of the Delta-Songhai Centre Agricultural Programmes on Beneficiaries in Delta State, Nigeria: Youth Economic Empowerment Approaches

Oghenero Joseph OVHARHE^{*1}, Peter Otunarukey EMAZIYE², Elizabeth YARHERE³, Onome ENEGESELE⁴

^{1,2}Department of Agricultural Economics and Extension Delta State University, Asaba Campus, Delta State

³Department of Animal Science and Fisheries Delta State University, Asaba Campus, Asaba, Delta State

⁴Raw Materials Research & Development Council, Asaba Delta State

¹<https://orcid.org/0000-0003-0732-2793> ²<https://orcid.org/0000-0001-7368-2186> ³<https://orcid.org/0000-0001-6693-5595>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-6558-6570>

*Sorumlu yazar e-posta: drovharhe.oghenero@gmail.com

Article Info

Received: 15.04.2020

Accepted: 03.03.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.720595

Keywords

Agricultural Programme,
Beneficiaries,
Training,
Empowerment,
Youth Farmers.

Abstract: This study was designed to examine the effects of the Delta-Songhai agricultural programs on beneficiaries in Delta State. Some objectives of the study were to: ascertain the type of training, determine the income generation level of the participants, measure the level of empowerment, and measure the level of satisfaction. A sample size of 72 was used in the study. This was obtained from random sampling using a multistage procedure. Results obtained were that male respondents (62.5%) dominated more than female with a mean age of 32 years. Respondents' average farming experience was five years. Respondents (97.2%) adopted poultry records skills, while respondents (94.5%) adopted aquaculture concrete pond techniques. Respondents were greatly empowered by the training program with a pooled mean of 2.89. Respondents' satisfaction level was high with a pooled mean of 2.89. Some constraints faced by the respondents were mostly, insufficient funds from the donor, poor project monitoring, and beneficiaries nonchalant behaviour after programme completion. Correlation result between poultry and aquaculture on income generation showed that poultry was more favourable than aquaculture. The study concluded that the training programme had a great impact on youth empowerment in poultry, aquaculture, piggery, and grass cutter production. It was recommended that these positive impacts should be sustained.

Delta-Songhai Merkezi Tarım Programlarının Nijerya, Delta Eyaletindeki Faydalanıcılar Üzerindeki Etkileri: Gençleri Ekonomik Olarak Güçlendirilme Yaklaşımları

Makale Bilgileri

Geliş: 15.04.2020

Kabul: 03.03.2021

Online Yayınlanma 15.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.720595

Anahtar kelimeler

Tarım Programı,
Yararlanıcılar,
Eğitim,

Öz: Bu çalışma, Delta-Songhai tarım programlarının Delta Eyaletindeki yararlanıcılar üzerindeki etkilerini incelemek için tasarlanmıştır. Çalışmanın bazı amaçları; katılımcıların eğitim türünü belirlemek, gelir elde etme düzeyini belirlemek, güçlendirme düzeyini ölçmek ve memnuniyet düzeyini ölçmek. Çalışmada 72 kişilik bir örnekleme büyüklüğü kullanılmıştır. Bu, çok aşamalı bir prosedür kullanılarak rastgele örneklemlerden elde edildi. Elde edilen sonuçlar, erkeklerin (% 62.5) 32 yaş ortalama ile kadınlardan daha baskın olduğuydu. Katılımcıların ortalama çiftçilik deneyimi beş yıldır. Katılımcıların % 97.2'si kümes hayvanı kayıt becerilerini benimserken, % 94.5'ü ise su ürünleri yetiştiriciliği beton havuz tekniklerini benimsemiştir. Ankete katılanlar, eğitim

Güçlendirme,
Genç çiftçiler

programı ile büyük ölçüde güçlendirilerek memnuniyet düzeyleri, ortalama 2.89'e yükseltildi. Katılımcıların karşılaştığı bazı kısıtlamalar çoğunlukla, yetersiz fon desteği, zayıf proje izleme ve program tamamlandıktan sonra yararlanıcıların kayıtsız davranışlarıydı. Kanatlı ve su ürünleri yetiştiriciliği arasında gelir yaratmadaki korelasyon sonuçları, kümes hayvanları yetiştiriciliğinin su ürünleri yetiştiriciliğine oranla daha olumlu olduğunu göstermiştir. Çalışmada, eğitim programının kümes hayvanları, su ürünleri yetiştiriciliği, domuz yetiştiriciliği ve çim biçme üretiminde gençlerin güçlendirilmesi üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmış ve bu olumlu etkilerin devam ettirilmesi önerilmiştir.

1. Introduction

The States and Federal Government of Nigeria over the years have formulated policies that will sustain and improve agricultural production and provide trained high-level manpower with technical skills, and project like the establishment of schools of agriculture, investment to train personnel who will become specialists in the field and agriculture program such as Green House Revolution, farm settlement scheme which was established in the 60s by the former eastern and western regional government in Nigeria, the goal was to enhance standards and attract youth into agriculture. In the world today, there is a need for the development of the youth and children. The need for youth is borne on the understanding that youth are leaders of tomorrow, youth development programmes and activities constitute veritable means for preparing the youth to take up future governance positions and responsibilities (Muhammad-Lawal, 2006)

The state agricultural policy of 2006 was framed against the backdrop of subsisting nation all policy on agriculture, 2001, which set the stage for state-level equivalents. Even though the policy came seven years after the state was created, it marked a significant turning point by defining the overall direction and goals of agricultural development, it also laid out the objectives, strategies, and targets for various sub-sectors of agriculture and agricultural support services. It adopted *en bloc* the division of agricultural development roles and responsibilities between the federal, state, local governments, and the organized private sector (Adebayo, 2010).

The state agricultural policy, when review by 2014, aimed at achieving agricultural growth and development for food security, industrial raw materials, gainful employment by youths, and export revenue with the central focus on small-scale crop and livestock farmers and fishermen, the policy also sought to provide an enabling environment for private sector deal in medium to large scale farming, service provision, and agribusiness. Other cognate policy objects were agricultural modernization, enhanced delivery of public agricultural services, particularly agricultural extension and modern agricultural inputs: optimal land and water use in agriculture, prevention of environmental degradation, and development of human resources, other sector-wide issues addressed by the policy include agricultural land, agricultural by-product, industrial crops (oil palm, rubber, cassava, plantain, tomato). There is a need to improve the nation's agricultural policy sector (Adebayo, 2010).

Youths possess a great deal of energy, this is exemplified in their muscular built, physical strength, agility, and youths are able to accomplish tasks requiring a great deal of energy. Unfortunately, this category of people is virtually left out in policies and programmes considerations even though this is a critical state for this group of people since this is a period of transition into adulthood (Akpan, 2010). This group of people is over 1.8-billion in the world today, 90% of whom live in developing countries, where they tend to make up a large proportion of the population and needs to be empowered since this is an important means of improving food security, youth livelihoods and employment (World Bank, 2010; FAO, 2018).

Many of the agricultural programmes on youth empowerment were short-lived and could not succeed in achieving their aims and objectives as perceived gaps. The problems include leadership tussle, lack of funds, inadequate professional leaders, lack of interest, and government attitude. Most youths do not want to apply their energy and time to agriculture. They read only the theory and do not apply it in practice. Ovwigho (2014) reported that youths are reluctant to practice agriculture because of the 'free or cheap' source of income from the oil business in the Niger Delta area.

1.1. Objectives of the study

The general objective of the study was to determine the effect of the Songhai-Delta Agricultural Programmes on beneficiaries in Delta State, specific objectives were to:

- i. Describe the socio-economic characteristics of the participants.
- ii. Ascertain the type of training undergone by Songhai Delta Amukpe
- iii. Ascertain the level of adoption of agricultural innovations in poultry and aquaculture sector
- iv. Measure the level of empowerment during the training programme.
- v. Determine the income generation level of aquaculture and poultry project beneficiaries.
- vi. Measure the level of satisfaction in the training of participants
- vii. Identify the problem militating against youth implementation of programme

1.2. Hypotheses

Two hypotheses were outlined to guide the study:

H₀₁: There is no significant difference between socio economic characteristic and satisfaction level of beneficiaries.

H₀₂: There is no significant relationship between income generation level of aquaculture and poultry project beneficiaries.

1.3. Related theoretical and empirical literature review

Concept of Youth in Agriculture and Development Programmes: The need for youth development is borne on the understanding that youths are the leaders of tomorrow. Youth in agriculture and development programmes constitute veritable means for preparing the youth to take up leadership positions and responsibilities (Mangal, 2009).

In many African countries, development intervention programmes are targeted at women and women without considering the youth, any human population consist primarily of children, youths and adults. Development intervention programmes must be targeted at all groups within the society to avoid rancor and bickering (Ovharhe and Gbigbi, 2016)

Youths play dominant roles in agriculture and community development improvement. There is need to design programmes to enhance their efficiency in agricultural production in view of improved livelihood. The youth stage calls for proper management on the part of the leaders to prevent problems that will annihilate the society. Youth programmes are ostensibly designed to tackle the perennial youth restiveness, idleness and deviant behavior that have come to characterize youth activities in African countries. Youth have a lot of energy that they often misdirect due to absence of guidance. Programmes are needed to attract and manage the potential energy of youths (Ovharhe, 2014; Ovharhe and Gbigbi, 2016)

The increasing realization of the place of the youth in the survival of the society has made developing countries to embark on youth empowerment programme. Ovharhe and Gbigbi, (2016) reflected that small scale enterprise and youth development projects are currently being embarked upon by a number government, non-governmental organizations and clubs as well as international development agencies including the world bank, united nations fund for population activities (UNFPA), united nations educational scientific and cultural organizations (UNESCO) and international fund for agriculture (IFAD).

Concept of the Delta Songhai Centre: This concept is an exact replicate of Songhai Centre in Benin Republic. It was established in Delta State after a corporate visit of the then Delta State Executive Council under the leadership of. The Governor of Delta State, Chief James Onanefe Ibori's (1999-2007). The main objective was to provide, opportunities for the then restive youths of Delta State in particular and Nigeria generally, for the acquisition of skills that would make the youths employable and indeed become employers of labour.

The specific objectives were to:

- i. Redirect the attention and energy of youth into agriculture and related income generating activities.

- ii. Provide intensive vocational training for selected young graduates who will in turn establish similar center.
- iii. Facilitate self-employment among youth using locally available resources.
- iv. Encourage trainees to discover and develop a high sense of responsibility through emphasis on self-discipline, dialogue, creativity, initiative and courage.
- v. Assist trainees master the mechanism of operating an integrated farming system.

Delta Songhai Integrated Farming System: The Delta Songhai is into modernized and integrated farming system tending to environmental sustainability. The 'no waste' philosophy which means zero emission research initiative (ZERI), where a waste in one section becomes useful and productive in another section. In the piggery unit, the droppings are collected and recycled for the production of gasses, biogas technology. The poultry effluents from the unit, dead organisms, and rotten eggs are used in the generation of maggots which is very rich in nasal protein are used to feed fishes, plants like lemma and water lettuce is there after harvested and cultured to also feed fishes especially the tilapia fishes.

The residues from palm oil processing unit called sludge rich in fat and oil is used for feed formulation for pigs, poultry droppings are applied as organic manure to crops such as maize, watermelon, tomato to boost their growth and productivity. Thus, achieving product recycle as best practices.

In value-addition chain, Delta Songhai adds value to product harvested like the processing of coconut into coconut oil, processing of mango, orange, pawpaw, guava, zobo, ginger all to juices and drinks. Adoptable agricultural practices in Delta Songhai Centre include: fishery, poultry, piggery, quail, grass cutter production, snailery, maggotry, and crop.

Delta Songhai Empowerment through Training: Various another have different concept of training, Durlak and Taylor (2007) conceives training as the process applying appropriate educational methodology to the situation in which improved performance can result from effective training as the act of increasing job. From this definition it can be observed that a trainee require a period of tutelage during which he/she performs skills over a period of time and this on the job. Ikoro (2014) seems to equate training with education, he considers the period of teaching, informing and educating people so that they can become well grinded and qualified to do their work and perform in a position of greater difficulty and responsibility, he added that training has to be a 2-way process as someone must teach and someone must learn. Adebayo et al. (2006) asserted that exposure of youths to empowerment training programmes ensure performance in programme implementation.

Songhai-Delta Amukpe welcomes students on industrial attachment programme (IT). Students from various institutions are trained effectively on agricultural activities such as in fishery, poultry, piggery, quail, snail, grass cutter, feed mill, and agro-processing. Institutions such as Delta State University (DELSU), University of Benin (UNIBEN), Niger Delta University (NDU), and Benson Idahosa University (BIU) have benefited from the training. In essence expose students to practical aspect of agricultural discipline, gives students the opportunity to apply their theoretical knowledge to real work situation thereby linking the gap between theoretical and practical approaches, acquaint students with development in agriculture and prepares youths for various job opportunities in agriculture. Such Agricultural programmes include fishery, poultry, quail, snail, feed mill, grass cutter rearing, agro processing. This prepares them to be able to manage their anticipated farms and handle positions in the agricultural sectors.

Youths under Delta State Government (1998 till date) have been involved in initiatives such as skill training entrepreneurial programme (STEP), youth empowerment from agricultural initiatives (YETA), youth agricultural entrepreneurial programme (YAGEP) are programmes were participants across 25 L.G.A were screened and selected to undergo training for life skills, attitudinal change and hand on management in agriculture, thereafter were giving starter packs to establish their farms and businesses.

Another impact of the Delta Songhai Centre is the field visits of primary and secondary schools individuals who became exposed to various agricultural innovations and practices as a result of the excursion.

Cooperate organizations which includes Universal Investment Development Company (UIDC), Shell Petroleum Development Company (SPDC), Niger Delta Development Commission (NDDC) have also be trained on capacity building programme and have all benefited from the modern agricultural practices. These corporate organizations are termed donor agencies.

2. Materials and Methods

The study was conducted in Delta State with reference to the Delta Songhai Centre in Amukpe, Sapele. The Delta State is situated at 5.89⁰ north latitude, 5.68⁰ east longitudes. A multi stage sampling procedure was used in this study. At the *first stage*, the three agricultural zones was selected. The *second stage* involved a simple random selection of 2 Local Government Area (LGAs) from Delta North, 3 LGA from Delta Central and 3 LGAs from Delta South Agricultural Zones. At the *third stage*, a purposive sampling of 100% of the participants under Youth Entrepreneurship Training in Agriculture (YETA) scheme will be identified as registered number of trained participants (144), sample frame. At the *fourth stage*, 50% of the participants was randomly selected from the sample frame; giving a sample size of 72 respondents. Table 1 shows the computation of the sampling procedure.

Table 1. Selection of respondents in the study area (n = 72)

Agricultural Zones (Stage 1)	Local Government Areas(Stage 2)	Total number of Participants (Stage 3)	Selection of Participants (50%)(Stage 4)
Delta North	Ika North-East	18	9
	Ukwuani	18	9
Delta South	Warri South- West	18	9
	Warri North	18	9
	Patani	18	9
Delta Central	Sapele	18	9
	Ughelli North	18	9
	Udu	18	9
Total	8	144	72

Source: Delta Songhai Participants.

Data collection approach: The method of data collection was objective-based and guided with the use of questionnaire to elicit responses from respondents (Ovharhe, 2019). The questionnaire comprises both open and close ended questions. Secondary information was obtained from Delta Songhai

Measurement of Variables: The socio – economic characteristics of the respondents were measure in line with contemporary standards (e.g. age was measured in years).

Contact with extension worker: This was done by appropriate indication as weekly, monthly, quarterly, biannually and annually. To ascertain the level of agricultural practices, some perceived statements were proposed to ascertain the level of agricultural practice in line with poultry and aquaculture beneficiaries to determine their responses. Adoption level was measured in line with Agbam (2006); Ovharhe (2017) that scores ranging from 5.5 - 10 were considered as high level of adoption; 4.1 - 5.4 were medium level of adoption and 0.0 - 4.0 were low level of adoption in adoption practices by Fadama farmers.

Respondents level of satisfaction of agricultural activities in agreement with Delta Songhai objectives was measured on a 4 point Likert-type scale of very satisfied=4, satisfied =3, unsatisfied =2, poorly satisfied =1 (using 2.5 as mean cut-off point). Respondents level of empowerment was measured by perceptual statements with Likert type weights assigned ranging from strongly agree=4, agree =3, disagree =2, strongly disagree =1. The cut off mean value (2.5) was actualized by $(4+3+2+1 = 10/4 = 2.5)$. This measure of empowerment computation by proxy was demonstrated by Ovharhe, and Gbigbi, (2016); supported by Alsop and Heinsohn (2005) and Rahman and Kazi (2007) who allegedly measured the degree of empowerment alongside with a 4-point continuum rating scale. Respondents’ level of income on monthly and annual basis was measured by asking beneficiaries to state their income on applicable monthly standard. An aggregate was compiled into annual format.

The types of training programme undergone by respondents in Delta Songhai was ascertained using a dichotomous scale of “yes” and “no” to obtain the information. Respondents’ constraints were obvious by presentation of perceptual statements to know the level of seriousness of issues as measured on a 4 point likert-type scale of very serious=4, serious=3, not serious=2, not serious=1 with mean cut-off point of 2.50. Constraints measures were done on Likert scale pattern.

Method of Data Analysis: Data for this study was analyzed using simple regression for the stated hypothesis.

There is no significant difference between socio economic characteristic and satisfaction level of beneficiaries:

A computation by linear, semi-log and double log forms of regression were used in the analysis. The formula of Linear Regression equation used:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 \dots + b_9 X_9 + e \tag{1}$$

Where,

- Y = Farmers' satisfaction score.
- b₀ = A constant
- b₁ to b₈ = regression coefficient of eight variables.
- X₁ = Age of farmers.
- X₂ = Sex of farmers.
- X₃ = Level of education of farmers.
- X₄ = Farming experience.
- X₅ = Farm size.
- X₆ = Income level.
- X₇ = Household size.
- X₈ = Frequency of contact with extension workers
- e = random error.

Semi-log functional form of regression

$$Y = \log b_0 + b_1 \log X_1 + b_2 \log X_2 + b_3 \log X_3 \dots + b_8 \log X_8 + e \tag{2}$$

Double log functional form of regression

$$\text{Log} Y = \log b_0 + b_1 \log X_1 + b_2 \log X_2 + b_3 \log X_3 \dots + b_8 \log X_8 + e \tag{3}$$

For decision rule, a lead equation was chosen to make conclusion based on (a) the relative magnitude of the R², (b) relative Fcal value of the models, (c) the function that showed more statistical significance.

The second hypothesis was tested using correlation:

Ho₂: there is no significant relationship between income generation level of aquaculture and poultry project beneficiaries

The correlation formula used:

$$r = \frac{N \sum xy - (\sum x) (\sum y)}{\sqrt{[N \sum x^2 - (\sum x)^2] [N \sum y^2 - (\sum y)^2]}} \tag{4}$$

Where:

- r = correlation coefficient,
- x = values for aquaculture
- y = values for poultry
- N = sampled number of respondents
- ∑ = summation

3. Result

Result in Table 2 shows that the mean age of the respondent was 32 years. This is in agreement with the findings of Everline et al (2010) that youths involved in community affairs are within the age bracket of 30 – 34 years. More males (62.5%) were involved in the training programme than females (37.5%). This finding of Adesoji et al. (2006) was not different from this that more males participated in training programmes than females.

Majority of respondents (47.2%) were unmarried as at when the study was conducted. This finding is in disagreement with those of Adesoji et al. (2006), that majority of respondents were married to provide additional source of income for the farm family.

Respondents (36.1%) had as OND/NCE educational attainment level. This results confirmed the level of literacy a participant needs before admission into the training programme. This is in agreement with the findings of Adesoji et al (2006) that most farmers had formal education which helped in fast learning and understanding. Average farm size for most youths was two hectares. This is in agreement with Akintude (2016) who asserted that few youths are interested in farming. The average of house hold size was five persons. Ofuoku, Ovharhe and Agbamu (2019) reported that most families in Delta State have an average of five to seven persons per household.

Respondents' average farming experience was 5 years before inception with the training programme. The highest extension visit was bi-annual (36.1%) as indicated by respondents.

Table 2. Socio-economic characteristics of respondents (n = 72)

Variables	Frequency	Percentage (%)	Mean
Age:			
20-24	10	13.9	
25-29	25	34.7	
30-34	27	37.5	32 years
35-39	10	13.9	
Gender			
Male	45	62.5	
Female	27	37.5	
Marital Status			
Unmarried	34	47.2	
Married	26	36.1	
Divorced	5	6.9	
Separated	6	8.3	
Widow	1	1.5	
Level of Education			
No Formal Education	1	1.4	
Primary	14	19.4	
Secondary	0	0.0	
OND/NCE	26	36.1	
HND/First Degree	20	27.8	
Post Graduate Degree	11	15.3	
Farm Size			
1-3	65	90.2	2
4-6	6	8.4	
7-9	0	0	
10 – 12	1	1.4	
House-hold Size			
1-3	19	26.4	
4-6	42	58.3	
7-9	9	12.5	5
10 -12	2	2.8	
Farming Experience			
1-3	27	37.4	
4-6	28	38.7	
7-9	11	15.2	
10 -12	4	5.9	5
13- 15	2	2.8	
Extension Visit			
Weekly	5	6.9	
Monthly	7	9.7	
Quarterly	24	33.3	
Bi-annually	26	36.1	
Annually	10	13.9	

Source: Field Survey Responses.

3.1. Ascertain the types of training empowerment by songhai Delta

Results in Table 3 shows that most of the beneficiaries participated in training for empowerment with high participation as revealed in the following enterprises poultry (94.4%) aquaculture (90.3%) snail production (87.5%) food processing (84.7%) piggery (80.6%) business accounting (75.0%) and grass cutter production (55.6%). Rahman and Kazi (2007) reported that farmers experienced high level of empowerment in aquaculture training programme in Bangladesh.

However, low participation was noticed in maggot breeding (48.6%), feed mill (54.2%) and handicraft (41.7%) Abdoul, Fernand, Salimata and Kalifa (2018) reported that low participation and interest was recorded among farmer using maggot as fish feed business because of the dirty environmental conditions, inadequate supply of poultry waste and low mineral contents.

Table 3. Respondents’ types of training empowerment in Delta Songhai (multiple responses)

Various kinds of training on:	Respondents (yes)	Percentage	Remark
Poultry	68	94.4%	High participation
Aquaculture	65	90.3%	High participation
Snail production	63	87.5%	High participation
Food processing	61	84.7%	High participation
Piggery	58	80.6%	High participation
Business accounting	54	75.0%	High participation
Grass cutter production	40	55.6%	High participation
Maggot breeding	35	48.6%	Low participation
Feed mill	39	54.2%	Low participation
Handicraft	30	41.7%	Low participation

Source: Field Survey Responses (< 50% implies low participation).

3.2. Adoptable agricultural innovations in the poultry sector

Table 4a shows that respondents had high levels of adoption of agricultural innovations in poultry enterprises as recorded in record keeping skills (97.2%), sorting and handing of eggs (86.1%), medication provision (86.1%), vaccination techniques (86.1%), litter application (80.6%) and feed formulation (83.3%). Adebayo, Oluwole, Obute, and Olatunji, (2018) reported that youths expressed more interests in poultry business than other aspects of business in Oyo State. While medium levels of adoption of agricultural innovations rates were associated with stocking density (66.7%) and brooding (61.1%). The implication is that many beneficiaries overstock their pens as reported by Ovharhe (2017). Absence of power supply affects breeding. The overall adoption level mean score is 5.5. This implies that adoption level was at high rate. This is different from the findings of Ovharhe (2016) who reported that farmers in the Niger Delta area experienced medium adoption rate in the poultry industry.

Table 4a. Extent of respondents’ adoption of agricultural innovations in poultry (n = 72)

S/N	Techniques	Total no. of adopters and its %	Pooled adoption score	Adoption level
1	Record Keeping	35(97.2)	5.9	High
2	Sorting and Handing of Eggs	31(86.1)	5.6	High
3	Medication provision	31(86.1)	5.6	High
4	Vaccination Techniques	31(86.1)	5.6	High
5	Litter Application	29(80.6)	5.5	High
6	Feed Formulation	30(83.3)	5.5	High
7	Stocking Density	24(66.7)	5.1	Medium
8	Brooding	22(61.1)	4.9	Medium
Overall adoption level = 5.5				

Source: Field Survey Responses.

3.3. Adoptable Agricultural Innovations in the Aquaculture Sector

Table 4b shows that respondents had high levels of adoption of agricultural innovations in poultry enterprises as in the use of concrete ponds (94.4%), marketing techniques (88.9%), pond treatment techniques (86.1%), harvesting technique (86.1%), record keeping (83.3%), stocking techniques (83.3%) and water treatment techniques (80.6%). On the other hand, medium levels of adoption was noticeable with breeding techniques (77.8%), storage techniques (69.4%), earthen pond preparation (58.3%) and feed formulation techniques (47.2%). Only maggot breeding technique (27.8%) had low adoption rate. This connotes that many youths do not see it as part of their best practices. The overall adoption level mean score is 5.3. This indicates that adoption level was at medium rate. This is similar to the findings of Ovharhe (2016) who reported that farmers in the Niger Delta area experienced medium adoption rate in the aquaculture industry. Again, aquacultural innovations were poorly adopted by farmers in Lagos State because of complexity and cost in technologies, poor extension contacts, low educational standard of farmers and weak planning (Jaji, Akalode, Agbelemoge and Yusuf, 2012).

Table 4b. Extent of respondents' adoption of agricultural innovations in aquaculture (n = 72)

S/N	Training Activities	Total no. of adopters and its %	Pooled score	adoption	Adoption level
1	Concrete pond preparation	34(94.4)	5.8		High
2	Marketing techniques	32(88.9)	5.7		High
3	Pond treatment techniques	31(86.1)	5.6		High
4	Harvesting technique	31(86.1)	5.6		High
5	Record keeping	30(83.3)	5.5		High
6	Stocking techniques	30(83.3)	5.5		High
7	Water treatment techniques	29(80.6)	5.5		High
8	Breeding techniques	28(77.8)	5.4		Medium
9	Storage techniques	25(69.4)	5.2		Medium
10	Earthen pond preparation	21(58.3)	4.9		Medium
11	Feed formulation techniques	17(47.2)	4.5		Medium
12	Maggot breeding technique	10(27.8)	3.8		Low
Overall adoption level = 5.3					

Source: Field Survey Responses.

3.4. Agricultural training empowerment level

The result in Table 5 shows that the respondents generally agreed that they were empowered by the Delta State Government to implement their acquired skills in their various farms after the Delta Songhai empowerment programme. Five categories of beneficiaries responded that they agreed for being empowered with skillful training (mean = 3.13), adequate participation (mean = 3.13), satisfactory input supply (mean = 3.13), technology utilization (mean = 3.13) and income generation increase (mean = 3.13). Only one category of beneficiaries responded that they disagreed for being empowered with safety tips (mean = 2.10). The pooled mean level of the empowerment programme is 2.89 which further translates that all respondents were well empowered during the training programme.

Issues relating to empowerment measurements are technical. Many scholars use *proxy* standards for measurement such as Rahman and Kazi (2007). Similar to this measurement, using rating scale, Ovharhe and Gbigbi (2016) used rating scales to measure the degree of Fadama youth empowerment programme in Delta State. They reported that Fadama youth were satisfied with the levels of empowerment provided for them to become self-employed which was similar to the actions of Delta Songhai.

Table 5. Respondents empowerment measurement level (n = 72)

Variables	Strongly Disagree (1)	Disagree (2)	Agree (3)	Strongly Agree (4)	Mean	Remark
Skillful training	1	2	54	15	3.15	Agreed
Adequate participation	1	6	47	18	3.13	Agreed
Satisfactory input supply	0	9	58	5	2.94	Agreed
Technology utilization	2	11	52	7	2.88	Agreed
Income generation Increase	5	10	20	37	2.72	Agreed
Safety tips	21	32	10	9	2.10	Disagreed
Pooled mean = 2.89						

Source: Field Survey Responses.

3.5. Income generation level of aquaculture and poultry project beneficiaries

Result in (Table 6) displays the monthly and annual income levels generated by beneficiaries. On monthly basis, December had the highest volume of income for both aquaculture (N1,390,000.00) and poultry (N1,780,000.00) project beneficiaries. The reason could be deduced from the prevalence of business during end of year with festivals and ceremonies. The average annual income were aquaculture (N518,666.67) and poultry (N568,166.67) respectively. From the result, it is obvious that poultry farmers made more income than aquaculture farmers. This is a confirmation to a survey report of Ugwumba and Chukwuji (2010) who reported that more farmers made profit in poultry than aquaculture business in Anambra State. Furthermore, a significant higher level of production and income generation rate attracted Oyo State youths into the poultry industry (Adebayo *et al.*, 2018).

Table 6. Respondents' level of income in aquaculture and poultry project (n = 72)

Monthly Income	Aquaculture (N'000)	Poultry (N'000)
January	380	426
February	366	490
March	400	538
April	538	570
May	590	430
June	430	350
July	380	366
August	360	495
September	490	538
October	500	385
November	400	450
December	1,390	1,780
Total	6,224,000.00	6,818,000.00
Average	518,666.67	568,166.67

Source: Field Survey Responses.

3.6. Level of satisfaction of agricultural activities in agreement with songhai objectives.

Table 7 below shows the frequency, percentage and means of the respondent on the level of satisfaction of agricultural activities in agreement with Songhai objectives. The result shows that the respondents were all satisfied with the management training of agricultural practices. This shows that majority of the respondents were satisfied with the training at poultry (mean = 3.24) and on aquacultural practices (mean = 3.19) amongst others. The pooled mean of 2.89 shows that the respondents were greatly satisfied with the various agricultural activities at Delta Songhai. However, there was dissatisfaction record with maggotry (mean = 2.25) and feed mill (mean = 2.01) component activities.

Youths are satisfied when brought in as stakeholders into project conceptualization, designs, implementation and ownership (Ajani, Mgbenka and Onah, 2015). This perception is enviable for project sustainability.

Table 7. Respondents’ satisfaction level of agricultural activities in agreement with Songhai objectives (n = 72)

Beneficiaries responses on training in:	Poorly Satisfied (1)	Unsatisfied (2)	Satisfied (3)	Very Satisfied (4)	Mean	Remark
Poultry	0	4	47	21	3.24	Satisfied
Aquaculture	2	5	42	23	3.19	Satisfied
Grasscutter	0	5	55	12	3.09	Satisfied
Piggery	0	5	56	11	3.08	Satisfied
Agro-processing	1	5	55	11	3.05	Satisfied
Snailry	2	8	47	15	3.04	Satisfied
Quail	4	20	43	5	2.68	Satisfied
Maggotry	16	26	26	4	2.25	Not satisfied
Feed mill	23	30	14	5	2.01	Not satisfied
Pooled mean = 2.89						

Source: Field Survey Responses.

3.7. Constraints militating against youth implementation of delta songhai programme

Table 8 shows that serious constraints were poor funding from donors (mean = 2.84), fund diversion (mean = 2.76), poor farm monitoring (mean = 2.70), beneficiaries nonchalant attitude (mean = 2.59), poor feeder road situation (mean = 2.59) and shortage of modern technology (mean = 2.56). The unserious constraints were inadequate starter package (mean = 2.47), poor communication system (mean = 2.41), poor publicity (mean = 2.27) and poor marketing (mean = 1.90). Ajani *et al.* (2015) reported that inadequate project funding, poor environmental and infrastructural provisions affects youth in developing interest in agriculture. Moreover, youths participating in backyard farming as a way to generate income complained about the poor monitoring and visits of agricultural extension workers (Ovharhe, Achoja, Okwuokenye. and Joe-James, 2020). The pooled mean for the constraint was at 2.51 it shows that the constraints were not very serious.

Table 8. Respondents’ constraints in programme implementation (n = 72)

Constraints	Not Serious (1)	Unserious (2)	Serious (3)	Very Serious (4)	Mean	Remark
Poor funding from donors	1	20	40	11	2.84	Serious
Fund diversion	2	20	43	7	2.76	Serious
Poor project monitoring	3	29	26	14	2.70	Serious
Beneficiaries nonchalant attitude	4	31	27	10	2.59	Serious
Poor feeder road situation	6	24	35	7	2.59	Serious
Shortage of modern technology.	1	36	28	7	2.56	Serious
Inadequate starter package	4	33	32	3	2.47	Unserious
Poor communication system	12	26	26	8	2.41	Unserious
Poor publicity	14	29	24	5	2.27	Unserious
poor marketing	25	32	12	3	1.90	Unserious
Pooled mean = 2.51						

Source: Field Survey Responses.

3.8. Test of hypothesis one

The result of the test of hypothesis is as follows:

H₀₁: There is no significant difference between socio economic characteristics and satisfaction level of beneficiaries

The regression result (Table 9) revealed that the entire variables were not significant except farming experience which has a p-value of 0.034 (p<0.05). This result is true as farming experience can have influence on the level of satisfaction The explanatory power of the independent variables (Age, Gender, Marital Status, Educational level, Farm size, Farming Experience, Household size and Extension) indicated by R² is 0.172. The R² shows that only 17% of variation in level of satisfaction was captured by the explanatory variable and that 83% was left for the error term. This shows low predictive capacity of the model. Surprisingly, youths have some level of farming experience due to child labour abuse, a situation where poor farm households pressurize children into farming activities in attempt to make ends meet. This is socially unethical (Ofuoku, Ovharhe, and Agbamu, 2019).

Table 9. Regression result between socio economic characteristics and satisfaction level of beneficiaries Coefficients

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
(Constant)	33.820	3.441		9.829	.000
Age	-.025	.083	-.051	-.301	.764
Gender	-.670	.800	-.104	-.837	.405
MaritalS	.117	.501	.037	.233	.817
EduL	.357	.354	.120	1.008	.318
FarmS	.037	.188	.025	.196	.845
FarmingE	-.326	.150	-.312	-2.165	.034*
HouseS	-.224	.203	-.138	-1.103	.274
Extension	-.282	.360	-.096	-.783	.437

*significant (p<0.05).

3.9. Test of hypothesis two

The second hypothesis was tested using Correlation to ascertain the relationship (Table 10). H₀₂: There is no significant relationship between income generation level of aquaculture and poultry project beneficiaries.

The correlation coefficient is 0.140 with p-value of 0.414 which is not significant. This coefficient shows that there is a weak relationship between the income generation level of aquaculture and poultry. The implication of this is that the income level of aquaculture is less than of poultry in the study area.

In a various farmers' backyard farms investment survey, it was reported that farmers were satisfied with their poultry business amongst others (Ovharhe et al., 2020).

Table 10. Regression result between income generation level of aquaculture and poultry project beneficiaries

Correlations				
Variables		Aquaculture (Income Generation)	Poultry (Income Generation)	(Income Generation)
Aquaculture (Income Generation)	Pearson Correlation	1	.140	
	Sig. (2-tailed)		.414	
	N	36	36	
Poultry (Income Generation)	Pearson Correlation	.140	1	
	Sig. (2-tailed)	.414		
	N	36	36	

Not significant (p>0.05).

4. Discussion and Conclusion

Based on the finding of this research it is believed that the training programme had a great impact on the youths mostly in poultry, aquaculture, piggery, food processing, grasscutter production and record keeping. It was observed that most of the beneficiaries were males with an average of five years farming experiences. Beneficiaries adopted more poultry innovations than aquaculture as reflected in their income generation report. As indicators of positive empowerment, beneficiaries expressed satisfactory in input supply, skillful training and adequate participation, optimal utilization of technology. The degree of constraints facing the youths in project implementation were not very serious on the average.

The results of this study also showed that majority of the beneficiaries had extension visits twice in a year. This further implies that beneficiaries do not have frequent encounters with extension agents to further familiarize themselves with latest best practices.

The findings from this study led to the following recommendations that:

- i. Donors should introduce project monitoring scheme after participant's graduation. This will ensure programme sustainability.
- ii. Extension workers should endeavor to visit farmers monthly instead of the observed biannual and annual visits. This will help boost their farm productivity by enhancing them to adopt innovative technologies and improved techniques
- iii. More attractive enterprises should be included in the training package to attract more female youths.
- iv. More training for beneficiaries on self-made feed mills for better profitability in livestock production.
- v. Maggot breeding should be adopted by the aquaculture beneficiaries as it is a rich feed diet for fish production.
- vi. Safety tips are usually ignored in agricultural training programmes; as a matter of policy implications, efforts should be made to incorporate safety technology into agricultural training curriculum

Acknowledgements

We hereby acknowledge the Delta-Songhai Centre, Amukpe, the Delta State Government and the Department of Agricultural Economics and Extension and the Department of Animal Science and Fisheries, Delta State University, Asaba Campus, Asaba, Delta State, Nigeria, for their support given to provide information. We also greet the beneficiaries and various respondents.

References

- Abdoul, G. S., Fernand, S., Salimata, P. & Kalifa, C. (2018). Indigenous practices in poultry farming using maggots in western Burkina Faso. *Journal of Insects as Food Feeds* 4 (1), 1 – 10.
- Adebayo, A. A. (2010). Food security status in Nigeria: Pre and Post Economic Deregulation Review. *International Journal of Economic Development Research and Investment*, 3(1), 16 – 22.
- Adebayo, K., Awotunde, M., Okuneye, P.A. & Okonowo, U.V. (2006). Assessment of Secondary School Agricultural Education Programme in the Rural Areas of Imo State, *Nigerian Journal of Rural Sociology*, 6 (1 and 2), 13 – 22.
- Adebayo, A., Oluwole, M. A., Obute, J. & Olatunji, T. (2018). Rural Youth Involvement in Poultry Production in Ido Local Government Area of Oyo State, Nigeria. *Asian Research Journal of Agriculture*, 9 (1), 1- 7.
- Adesoji, S. A., Farinde, A. J., & Ajayi A.O. (2006). Assesment of Training Needs of Fadama Farmers for Future Agricultural Extension Work Development in Ogun State, Science alert an open access Publisher. 45pp
- Agbamu, J. U. (2006). *Essentials of Agricultural Communication in Nigeria*. Lagos: Malthouse Press, pp. 21-34.

- Ajani, E. N., Mgbenka, R. N & Onah, O. (2015). Empowerment of Youths in Rural Areas through Agricultural Development Programmes: Implications for Poverty Reduction in Nigeria. *International Journal of Research in Agriculture and Forestry* 2 (12), 34 – 41.
- Akpan S. B. (2010). *Encouraging Youth's Involvement in Agricultural Production and Processing*. International Food Policy Research Institute: Abuja, 34pp.
- Akintude O. K. (2016). *Determinants of Poultry Farmer's Participation in Livestock Insurance*, Southwest Nigeria, science alert an open access publisher. 45pp
- Alsop, R. & Heinsohn, N. (2005). *Measuring Empowerment in Practice: Structuring Analysis and Framing Indicators*. Policy Research Working Paper: No. 3510, World Bank, Washington D. C.
- Durlak, J. A. & Taylor, R. D. (2007). Effects of Positive Development Programs on School, Family and Community Systems. *American Journal of Community Psychology*, 39 (3-4), 269 – 268.
- Everline M. M., Zipporah, N. P. & Wanzala, J. O. (2010), Prevalence and Factors Associated with Percutaneous Injuries and Splash Exposures among Health Care Workers in Provincial Hospital Kenya, *Pan African Medical Journal* 4 (1), 23 – 30.
- Food and Agricultural Organization. (2018). Youth employment in agriculture as a solid solution to ending hunger and poverty in Africa. www.fao.org Access date 06.03.2020.
- Ikoro, D. (2014). Youths and women agricultural training under the directorate of agriculture of the niger delta development commission in Abia state. *International Journal of Applied Research and Technology* 3 (1), 21 – 26.
- Iwala. (2006), productivity and technical efficiency of oil palm production in Nigeria, *Journal Of Food, Agriculture and Environment* 2(2):275-279.
- Jaji, M., Akolade, G. O., Agbelemoge, A. A. & Yusuf, A. K. (2012). Adoption of improved aquaculture production technologies among fish farmers in Lagos state, Nigeria. *Scottish Journal of Agricultural Science*, 4 (1), 42 – 52.
- Kampmann, M. (1999). Sector programmes and how it can contribution to poverty Reduction and Gender Equity. *Agriculture and Rural Development*, 6, (2), pp. 8 -9.
- Mangal. H, (2009). *Best practices for youth in agriculture: the Barbados, Grenada and saint Lucia experience*. Final report, 26pp.
- Muhammad-Lawal, A., & Atte, O. A. (2006). An analysis of agricultural production in Nigeria. *African Journal of General Agriculture*, 2 (1), 12 – 20.
- Ofuoku, A. U., Ovharhe, O. J. & Agbamu, J. U. (2019). Child labor in farming households in the Niger delta region of Nigeria. *Journal of Developing Societies*, 36 (1), 41 – 55
- Ovharhe, O. J. (2014). *Fadama III Beneficiaries Agronomic Production Survey (FBAPS), Delta State*. Proceedings of the 28th Annual Conference of the Farm Management Association of Nigeria held from 15th to 18th November, 2014 at the Delta State Univ. Abraka, pp. 44-51.
- Ovharhe, O. J. & Gbigbi, M. T. (2016). Socio-economic Determinants of Youth Empowerment by Fadama III Project in Delta State, Nigeria: Implications for agricultural transformation. *International Journal of Agric.l Extension and Rural Development Studies*, 3 (1), 12-20.
- Ovharhe, O. J. (2016). Aquaculture technologies adoption by Fadama III Aquaculture Farmers in Niger Delta. *Journal of Northeast Agricultural University* 23(4), 78 – 81.
- Ovharhe, O. J. (2017). *Evaluation of the Performance of Fadama III Agricultural Projects in the Niger Delta Area of Nigeria. A Ph. D. Thesis* in Agricultural Extension, Department of Agricultural Economics and Extension, Faculty of Agriculture, Delta State University, Abraka, Nigeria.
- Ovharhe, O. J. (2019). Determinants of the socioeconomic profile of Fadama III Project beneficiaries in three States of Niger Delta Area of Nigeria. *International Journal of Agricultural Science*, 4, 29 – 34
- Ovharhe, O. J., Achoja, F. O., Okwuokenye, G. F. & Joe-James, U. O. (2020). Appraisal of backyard farming among households: implications for rural development and food security in Nigeria. *Asian Journal of Agriculture and Rural Development* 10(1), 160 – 170
- Ovwigbo, B. O. (2014). Factors Involving Involvement in Nonfarm Income Generating Activities among Local Farmers: The Case of Ughelli South Local Government Area of Delta State, Nigeria. *Sustainable Agricultural Research*, 3 (1), 76 – 84.

- Rahman, M. & Kazi, N. (2007). Women empowerment through participation in aquaculture: experience of a large-scale technology demonstration project in Bangladesh. *Journal of Social Science*, 3 (1), 164 – 171.
- Ugwumba, C. O. A. & Chukwuji, C. C. (2010). The Economics of catfish Production in Anambra State, Nigeria: A Profit Function Approach. *J. of Agric. and Social Sciences*, 6 (2), 23 – 30.
- World Bank (2001). The World Youth Forum Report, Washington, D.C. www.worldbank.org Access date: 20.03.2020.



Araştırma Makalesi (Research Article)

Evaluation of the Fungicide Resistance of Gray Mold (*Botrytis cinerea*) in Tomatoes to Boscalid and Pyraclostrobin in Greenhouse Areas of Turkey

Esra GÜL^{*1}, Zeynep KARATAŞ², Aziz KARAKAYA³

^{1,2,3}Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 06110, Ankara, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-8001-3412> ²<https://orcid.org/0000-0002-6487-9451> ³<https://orcid.org/0000-0003-3019-9009>

*Corresponding author e-mail: esragul@ankara.edu.tr

Article Info

Received: 02.11.2020

Accepted: 20.03.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.820029

Keywords

Antalya,

Boscalid,

Gray Mold,

Pyraclostrobin,

Tomato.

Abstract: *Botrytis cinerea*, a polyphagous pathogen, can infect all of the aboveground parts of tomato plants and cause significant yield and quality losses. Fungicides are commonly used for the control of this pathogen. Currently, resistance to fungicides, which provide the effective and fast control of pathogens, is an important problem. In this study, resistance of *B. cinerea* isolates obtained from tomato greenhouses in Antalya province against Signum[®] (boscalid + pyraclostrobin) and Cantus[®] (boscalid) fungicides were evaluated under *in vitro* conditions. Mycelium growth tests conducted with different fungicide concentrations and EC₅₀ values were calculated. While EC₅₀ values of isolates sensitive to boscalid varied between 0.7 and 8.6 µg/ml, EC₅₀ values of isolates sensitive to boscalid + pyraclostrobin were found to be between 0.1 and 1.9 µg/ml. Conidial germination tests were carried out in a 2% water agar (WA) medium. It was determined that isolates 61, 69, 72, and 81 were resistant to both fungicides, while isolates 57 and 97 were sensitive to boscalid and resistant to boscalid + pyraclostrobin. It has been determined that 20% of the isolates were resistant to both fungicides. Isolates resistant to boscalid but sensitive to boscalid+pyraclostrobin were not found. With this current *in vitro* study, the first data on the resistance formation against boscalid and boscalid + pyraclostrobin active ingredients in *B. cinerea* populations in Antalya province were presented. There is a need to develop integrated control programs that can be used in the control of the pathogen.

Türkiye’de Domates Seralarında Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*) Hastalığının Boscalid ve Pyraclostrobin’e Karşı Fungisit Dayanıklılığının Değerlendirilmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 02.11.2020

Kabul: 20.03.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.820029

Anahtar kelimeler

Antalya,

Boscalid,

Kurşuni Küf,

Pyraclostrobin

Domates.

Öz: Polifag bir patojen olan *Botrytis cinerea*, domatesin toprak üstü kısımlarını enfekte edebilmekte ve önemli verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Fungisitler bu patojenin kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde patojenlerin etkili ve hızlı kontrolünü sağlayan fungusitlere karşı dayanıklılık oluşumu önemli bir sorundur. Bu çalışmada Antalya ili domates seralarından elde edilen *B. cinerea* izolatlarının Signum[®] (boscalid + pyraclostrobin) ve Cantus[®] (boscalid) fungusitlerine karşı dayanıklılığı *in vitro* koşullarda değerlendirilmiştir. Farklı fungusit konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirilen misel gelişim testleri ile EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Boscalid’e hassas izolatların EC₅₀ değerleri 0,7 ile 8,6 µg/ml arasında değişirken, boscalid + pyraclostrobin etken maddelerine karşı hassas izolatların EC₅₀ değerleri 0,1 ile 1,9 µg/ml arasında bulunmuştur. Konidi çimlenme testleri % 2’lik su agarı (WA) ortamında gerçekleştirilmiştir. 61, 69, 72 ve 81 numaralı izolatların her iki fungusite

dayanıklı olduğu, 57 ve 97 numaralı izolatların boscalide hassas iken boscalid + pyraclostrobin'e dayanıklı olduğu belirlenmiştir. İzolatların %20'sinin her iki funguside dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Boscalid'e dayanıklı, ancak boscalid + pyraclostrobin'e hassas izolatlar bulunamamıştır. Bu çalışmada Antalya ilindeki *B. cinerea* popülasyonlarında boscalid ve boscalid + pyraclostrobin etken maddelerine karşı dayanıklılık oluşumuna ilişkin ilk veriler sunulmuştur. Patojenin mücadelesinde entegre mücadele programlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

1. Introduction

Tomato is one of the most produced vegetables in the world, which is highly valuable in fresh markets and used as an important component in the making of various industrial products (FAO, 2020). Turkey is an important tomato producer country in the world. In 2019, 12 841 990 tons of tomatoes are produced in Turkey. Thirty-nine percent of the tomato production in Turkey was carried out in Antalya province for both domestic consumption and export. In Antalya province, 2 421 247 tons in plastic tunnels and greenhouses and 2 528 905 tons from the field are produced (Tuik, 2019). *Botrytis cinerea*, a polyphagous pathogen, can infect all of the aboveground parts of tomato plants and cause significant yield and quality losses. *B. cinerea*, which is a fungus prone to fungicide resistance, has been found to be resistant to most fungicides (Kim and Xiao, 2010; Yin et al., 2011; Weber, 2011; Liu et al., 2016). Site-specific fungicides are mainly used in the chemical control of gray mold disease (Konstantinou et al., 2015). Boscalid and pyraclostrobin active ingredients are included in this group of fungicides. Together with the use of these fungicides, which spread systemically within the plant, the development of resistance in pathogen populations and a decrease in fungicide activity were observed (Hahn, 2014). These fungicides cause death in the fungus by preventing mitochondrial respiration and by preventing energy production in the cell (Fernández-Ortuño et al., 2008). Mutations that cause resistance in fungi against these fungicides have been identified (De Miccolis Angelini et al., 2010; Leroux et al., 2010; Veloukas et al., 2014).

Currently, mixtures of QoIs and SDHIs fungicides are among the recommended fungicides for the control of *B. cinerea* in Turkey (Bkü Veri Tabanı, 2021).

It is stated that there is a high risk of resistance to the active ingredient pyraclostrobin in the QoIs group, and the risk of fungicide resistance to the boscalid active ingredient in the SDHIs group is medium-high (FRAC, 2020). Resistance in *B. cinerea* has been reported against fungicides containing boscalid (Yin et al., 2011; Veloukas et al., 2011; Konstantinou et al., 2015; Kanetis et al., 2017) and boscalid + pyraclostrobin active ingredients (Kim and Xiao, 2010; Fernández-Ortuño et al., 2012, 2014;). It is stated that if fungicide-resistant populations become dominant due to selection pressure, the control of the disease will be difficult (Kim and Xiao, 2010). Therefore, it is important to evaluate the resistance status of fungus populations.

In Turkey, there is no research on the fungicide resistance in *B. cinerea* populations in greenhouse tomato production areas. Determining the effects of commonly used fungicides against this important pathogen of tomato will contribute to the development of programs for controlling the pathogen. Fungicides with boscalid + pyraclostrobin active ingredients are widely used to control *B. cinerea* in the greenhouse areas of the Antalya province of Turkey. This study was conducted to determine fungicide resistance under *in vitro* conditions against fungicides with the active ingredients boscalid and boscalid + pyraclostrobin.

2. Materials and Methods

2.1. Survey study in tomato greenhouses and isolation of *Botrytis cinerea* isolates

A survey study was carried out in tomato greenhouses of Antalya province of Turkey in December 2018. Leaf, stem, and fruit samples that were infected with *Botrytis cinerea* from different districts of Antalya were taken. Diseased plant samples were brought to the laboratory and the parts containing diseased and healthy tissues were cut with a scalpel and kept in a 1% NaOCI solution for 1 minute. Then the tissue pieces dried between sterile paper towels and they were transferred to Potato

Dextrose Agar (PDA) medium. Isolates were purified by taking the hyphal tips under a stereomicroscope and then transferred to agar slants and stored at +4 °C. The isolates used in this current experiment were selected from the isolates representing different districts and greenhouses and they were previously phenotypically characterized (Gül and Karakaya, 2020).

2.2. Fungicides

Cantus® (50%) with the boscalid active ingredient and Signum® with boscalid 26.7% + pyraclostrobin 6.7% active ingredients (BASF) were used in mycelium growth and conidial germination tests. The fungicides used in the tests were obtained from BASF Central Anatolia, Turkey branch. The stock solutions of the fungicides were prepared by dissolving them in water. The SHAM stock solution (100 mg/ml) was prepared by dissolving in methanol for boscalid + pyraclostrobin active ingredients (Kim and Xiao, 2010). Stock solutions were stored for up to one week at +4 °C. Different concentrations were prepared by adding to the agar media from these stock solutions.

2.3. Mycelium growth tests

Twenty isolates presented in Table 1 were used in mycelium growth tests. Zero, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 5, 25 µg/ml doses of Cantus® fungicide, and 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 10, 50 µg/ml doses of Signum® fungicide were added to the PDA medium. In the test conducted with the Signum® fungicide, to prevent alternative oxidase breathing, 1 ml of SHAM stock solution was added to 1 liter of PDA medium to the control and different fungicide concentrations. From the isolates grown for 2-3 days in the dark at 20° C in PDA medium, 6 mm diameter discs were taken from the tips of the actively growing colonies using a sterile cork borer and transferred to the Petri dishes containing different fungicide concentrations. There were 3 replications. The test was repeated twice. Petri dishes were incubated in the dark at 20°C for 3 days and the colony diameters were measured in two directions (Kim and Xiao, 2010).

2.4. Calculation of EC₅₀ values and statistical analysis

Percentage inhibition values were calculated by measuring the mycelium growth diameters of fungal isolates at different fungicide doses and control Petri dishes. Regression analysis was performed in GraphPad Prism 8 statistics program (GraphPad Software, San Diego, CA) using percent inhibition values obtained from mycelium growth tests and logarithmic values of fungicide doses, and EC₅₀ values were calculated. In order to determine whether there was a significant difference among the EC₅₀ values of resistant and sensitive isolates, all isolates were subjected to a *t*-test.

2.5. Conidial germination tests

Two percent WA was used in conidial germination tests of active ingredients boscalid and boscalid + pyraclostrobin. Conidial germination tests were performed as 5 µg/ml and 100 µg/ml doses in boscalid + pyraclostrobin active ingredients and 5 µg/ml dose in boscalid active ingredient using 3 replications (Kim and Xiao, 2010; Yin et al., 2011). SHAM was added to media containing the boscalid + pyraclostrobin and their controls.

Isolates numbered as 2, 26, 43, 57, 72, 61, 69, 81, 95, 97, 103, and 143 which were thought to be resistant and sensitive according to EC₅₀ values, were included in the conidial germination test. These isolates used in conidial germination tests were grown in PDA medium for 10 days. To prepare the conidial suspension, 2 ml of sterile distilled water was poured into the Petri dishes, and conidia were harvested by using a sterile scalpel. Then, the density of the spore suspension, which was passed through a sterile cheesecloth, was adjusted to 1x 10⁵ conidia/ml by using the hemocytometer. Twenty µl of the spore suspension of each isolate was transferred to the WA medium to which fungicide was added. After the incubation of Petri dishes at 20°C for 12 hours, spore germination was examined under a stereomicroscope.

3. Results

Regression equations obtained as a result of mycelium growth tests, their EC_{50} values and the isolates found to be resistant and sensitive are presented in Table 1. While EC_{50} values of isolates sensitive to boscalid active ingredient varied between 0.7 and 8.6 $\mu\text{g/ml}$, EC_{50} values of isolates sensitive to boscalid + pyraclostrobin active ingredients were found to be between 0.1 and 1.9 $\mu\text{g/ml}$. It was determined that isolates 61, 69, 72, and 81 were resistant to both fungicides, while isolates 57 and 97 were sensitive to boscalid and resistant to boscalid + pyraclostrobin. As a result of the *t*-test, the difference between the EC_{50} values of the sensitive and resistant isolates to Cantus® (boscalid 50%) and Signum® (boscalid 26.7% + pyraclostrobin 6.7%) fungicides were found statistically significant ($P < 0.05$).

According to EC_{50} values, sensitive and resistant isolates were selected and conidial germination tests were carried out. While conidial germination was not observed in sensitive isolates at the dose of 5 $\mu\text{g/ml}$ in boscalid active ingredient, it was determined in resistant isolates under a stereomicroscope. In boscalid + pyraclostrobin active ingredients, there was no conidial germination in sensitive isolates at the 5 $\mu\text{g/ml}$ and 100 $\mu\text{g/ml}$ fungicide doses whereas conidial germination was observed in resistant isolates at both concentrations.

Resistance to boscalid was determined in S3, S5, M1, and M6 phenotypic groups, and resistance against boscalid + pyraclostrobin active ingredients occurred in phenotypic groups of S2, S3, S5, M1, and M6. Fungicide resistance was determined in both sclerotial and mycelial type phenotypes. No relationship could be inferred between fungicide resistance and phenotypic groups of isolates (Table 1).

Table 1. Some information about *Botrytis cinerea* isolates and their reactions to active ingredients boscalid and boscalid + pyraclostrobin

Isolate no	Districts of Antalya province where the isolates were obtained	Phenotypes of the isolates (Gül and Karakaya 2020)	Plant parts from which <i>B. cinerea</i> was obtained	Regression equations (boscalid)	EC ₅₀ values µg/ml (boscalid)	Resistance/Susceptibility to boscalid	Regression equations (boscalid + pyraclostrobin)	EC ₅₀ values µg/ml (boscalid + pyraclostrobin)	Resistance/Susceptibility to boscalid + pyraclostrobin
2	Serik	S4	Leaf	Y = 11x+49	1.4	S	Y=19x+62	0.2	S
8	Serik	M1	Leaf	Y = 14x+45	2.5	S	Y=20x+66	0.3	S
11	Serik	S5	Leaf stalk	Y= 17x+41	2.9	S	Y=40x+84	0.2	S
26	Serik	S2	Leaf	Y = 15x+51	0.9	S	Y=22x+66	0.2	S
38	Serik	S3	Leaf	Y = 14x+44	2.8	S	Y=24x+69	0.2	S
43	Serik	S1	Leaf	Y = 17x+43	2.6	S	Y=23x+73	0.1	S
57	Serik	M6	Leaf stalk	Y = 9x+45	6.7	S	Y=10x+29	49	R
59	Serik	S4	Leaf	Y = 12x+47	2	S	Y=10x+52	0.6	S
61	Finike	S3	Stem	Y = 10x+34	25	R	Y= 10x+19	27	R
69	Finike	S5	Leaf	Y = 11x+33	29	R	Y=9x+20	30	R
72	Finike	M1	Fruit	Y = 10x+35	19	R	Y=4x+24	12	R
74	Finike	S1	Leaf	Y = 17x+40	4.2	S	Y=15x+59	0.3	S
81	Kepez	M6	Leaf	Y = 11x+32	30	R	Y=6x+20	44	R
92	Kepez	M1	Leaf stalk	Y = 17x+47	1.5	S	Y=17x+45	1.9	S
95	Kepez	M3	Leaf	Y = 12x+41	0.7	S	Y=17x+42	1.8	S
97	Kepez	S2	Leaf stalk	Y = 9x+46	2.9	S	Y=12x+32	15	R
98	Kepez	S4	Leaf stalk	Y = 14x+41	4.4	S	Y=26x+54	0.6	S
102	Aksu	S2	Leaf stalk	Y = 11x+45	3.1	S	Y=26x+61	0.4	S
103	Aksu	S3	Leaf stalk	Y= 11x+46	2.5	S	Y=30x+71	0.2	S
143	Kumluca	S3	Leaf	Y = 15x+37	8.6	S	Y=15x+51	0.9	S

* The isolates selected for the conidial germination tests are written in bold. S: Sensitive, R: Resistant.

4. Discussion and Conclusion

In the Aksu and Kumluca districts of Antalya province resistance to boscalid + pyraclostrobin was not found. Resistance to boscalid was not detected in Serik, Aksu, and Kumluca districts. A lower number of isolates showed resistance to boscalid. Isolates resistant to both fungicides have been found in the Finike and Kepez districts of Antalya (Table 1). It has been determined that 20% of the isolates were resistant to both fungicides. While the rate of isolates resistant to boscalid was 20%, the rate of those resistant to boscalid + pyraclostrobin was determined to be 30%.

It is stated that differential doses can be used as a reliable method in determining the resistance against boscalid and boscalid + pyraclostrobin active ingredients (Kim and Xiao, 2010; Yin et al., 2011). In our current study, similar to previous findings, it appears that conidia germination tests are compatible with mycelium growth tests and can be used as a practical way to detect resistant isolates. In order to calculate the EC₅₀ values of isolates by mycelium or conidia germination tests, *in vitro* tests should be established using different doses of fungicides.

While resistant to boscalid, isolates sensitive to boscalid + pyraclostrobin were not found in our current study. Similar results were obtained in a previous study by Fernández-Ortuño et al. (2012). The high EC₅₀ values of the isolates against boscalid + pyraclostrobin indicate a high risk of pathogen resistance to this fungicide (Table 1). Therefore, it may be advisable to use boscalid active ingredient alone in its chemical control to delay the formation of fungicide resistance in the pathogen (Fernández-Ortuño et al., 2012). Fungicides with boscalid active ingredients are not recommended alone in the control against *B. cinerea* in Turkey (Bkü Veri Tabanı, 2021).

Resistance to a fungicide with the active ingredients boscalid + pyraclostrobin has been reported in stored apples (Kim and Xiao, 2010), strawberry fields (Fernández-Ortuño et al., 2012; 2014), and kiwifruit (Bardas et al., 2010). In tomato, it was reported that the EC₅₀ values of *B. cinerea* isolates against Signum® were 0.014-0.48 µg/ml and there was no significant resistance (Rodríguez et al., 2014). The EC₅₀ values obtained in our current study show that resistance against this fungicide is significant (Table 1).

To our knowledge, fungicide resistance against boscalid and pyraclostrobin active ingredients of *B. cinerea* has been reported for the first time in greenhouse tomato areas in Turkey. In our future studies, molecular characterization of fungicide resistance is planned.

It appears that the use of fungicides with active ingredients of boscalid + pyraclostrobin in tomato greenhouses will lead to increased resistance in the *B. cinerea* population. For this reason, other active ingredients should be used alternately to prevent fungicide resistance. However, in order to create chemical control programs in tomato greenhouses, multiple fungicide resistance of *B. cinerea* populations should also be evaluated. Moreover, there is a need to develop integrated control programs that can be used in the control of the pathogen.

With this current *in vitro* study, the first data on the resistance formation against boscalid and boscalid + pyraclostrobin active ingredients in *B. cinerea* populations in Antalya province were presented. This resistance should also be determined molecularly by using a large number of isolates. It is necessary to implement measures to decrease fungicide resistance to reduce the damage caused by gray mold disease and methods that could be alternatives to chemical control should be developed (Hahn, 2014).

Acknowledgements

We would like to thank İlham Uzun and BASF Central Anatolia and Black Sea Branch of Turkey for their assistance in the supply of Cantus® and Signum® fungicides. This study was financially supported within the scope of the TÜBİTAK 2209 Student Project (Grant number: 1919B011900973).

References

Bardas, G. A., Veloukas, T., Koutita, O., & Karaoglanidis, G. S. (2010). Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups. *Pest Management Science*, 66(9), 967-73.

- Bkü Veri Tabanı. (2021). <https://bku.tarimorman.gov.tr/Zararli/Details/1252?csrt=13003065846185346056DeMiccolis>.
- Angelini, R. M., Habib, W., Rotolo, C., Pollastro, S., & Faretra, F. (2010). Selection, characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to the fungicide boscalid. *European Journal of Plant Pathology*, 128, 185-199.
- FAO. (2020). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Access date: 10.10.2019.
- Fernández-Ortuño, D., Chen, F., & Schnabel, G. (2012). Resistance to pyraclostrobin and boscalid in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry fields in the Carolinas. *Plant Disease*, 96, 1198-1203.
- Fernández-Ortuño, D., Grabke, A., Bryson, P. K., Amiri, A., Peres, N. A., & Schnabel, G. (2014). Fungicide resistance profiles in *Botrytis cinerea* from strawberry fields of seven southern U.S. states. *Plant Disease*, 98, 825-833.
- Fernández-Ortuño, D., Torés, J. A., de Vicente, A., & Pérez-García, A. (2008). Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology*, 11, 1-9.
- FRAC. (2020). https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2020-finalb16c2b2c512362eb9a1eff00004acf5d.pdf?sfvrsn=54f499a_2. Access date: 14.02.2021.
- Gül, E., & Karakaya, A. (2020). 30th Scientific-Experts Conference of Agriculture and Food Industry. AgriConf 2019. IFMBE Proceedings, In: Brka M, Omanović-Miklićanin E, Karić L, Falan V, Toroman A (eds) *Prevalence of Botrytis cinerea in tomato greenhouses in Antalya province of Turkey and phenotypic characterization of isolates*, 78 Springer, Switzerland, pp 98-106.
- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, 7, 133-141.
- Kanetis, L., Christodoulou, S., & Iacovides, T. (2017). Fungicide resistance profile and genetic structure of *Botrytis cinerea* from greenhouse crops in Cyprus. *European Journal of Plant Pathology*, 147, 527-540.
- Kim, Y. K., & Xiao, C. L. (2010). Resistance to pyraclostrobin and boscalid in populations of *Botrytis cinerea* from stored apples in Washington State. *Plant Disease*, 94, 604-612.
- Konstantinou, S., Veloukas, T., Leroch, M., Menexes, G., Hahn, M., & Karaoglanidis, G. (2015). Population structure, fungicide resistance profile, and *sdhB* mutation frequency of *Botrytis cinerea* from strawberry and greenhouse-grown tomato in Greece. *Plant Disease*, 99, 240-248.
- Leroux, P., Gredt, M., Leroch, M., & Walker, A. S. (2010). Exploring mechanisms of resistance to respiratory inhibitors in field strains of *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 6615-6630.
- Liu, S., Che, Z., & Chen, G. (2016). Multiple-fungicide resistance to carbendazim, diethofencarb, procymidone, and pyrimethanil in field isolates of *Botrytis cinerea* from tomato in Henan Province, China. *Crop Protection*, 84, 56-61.
- Rodríguez, A., Acosta, A. & Rodríguez, C. (2014). Fungicide resistance of *Botrytis cinerea* in tomato greenhouses in the Canary Islands and effectiveness of non-chemical treatments against gray mold. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 2397-2406.
- Tuik. (2019). http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. Access date: 12.10.2019.
- Veloukas, T., Leroch, M., Hahn, M., & Karaoglanidis, G. S. (2011). Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. *Plant Disease*, 95, 1302-1307.
- Veloukas, T., Kalogeropoulou, P., Markoglou, A. N., & Karaoglanidis, G. S. (2014). Fitness and competitive ability of *Botrytis cinerea* field isolates with dual resistance to SDHI and QoI fungicides, associated with several *sdhB* and the *cytb* G143A mutations. *Phytopathology*, 104, 347-356.
- Weber, R. W. S. (2011). Resistance of *Botrytis cinerea* to multiple fungicides in Northern German small-fruit production. *Plant Disease*, 95, 1263-1269.
- Yin, Y. N., Kim, Y. K., & Xiao, C. L. (2011) Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology*, 101, 986-995.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Araştırma Makalesi (Research Article)

Bilgi ve İletişim Teknolojilerinin Kırsal Kalkınmadaki Rolünün A'WOT Analizi ile Değerlendirilmesi

Rukiye Gizem ÖZTAŞ KARLI^{*1}

¹Bartın Üniversitesi, Mühendislik, Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Bartın, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-0999-418X>

*Sorumlu yazar e-posta: roztas@bartin.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 01.09.2020

Kabul: 28.01.2021

Online Yayınlanma 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.788802

Anahtar kelimeler

Akıllı kırsal alan,
A'WOT analizi,
BİT,
Kırsal kalkınma.

Öz: Küreselleşme ve gelişen teknoloji kırsal kalkınma kavramının da değişmesine neden olmuştur. Bu bağlamda küreselleşen dünyaya ayak uydurabilmek, sosyo-ekonomik gelişmeye katkı sağlamak ve akıllı ve rekabetçi kırsal alanlar oluşturmak amacıyla bilgi ve iletişim teknolojilerinin (BİT) kırsal alanlarda kullanımının artması gerekmektedir. Literatürde çeşitli alanlarda A'WOT tekniği kullanılmasına rağmen kırsal kalkınmaya yönelik çalışmalarda özellikle turizm konusu dışında yeterli sayıda çalışma olmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın amacı BİT'in kırsal kalkınmadaki rolünü ortaya koyarak Türkiye'deki kırsal alanların BİT potansiyelini A'WOT analizi ile değerlendirmektir. Sayısal çözümlenelerde veri olarak 9 uzmanın görüşünden yararlanılmıştır. Bulgular, kırsal alanların altyapısının yüksek oranda tamamlanmış ve akıllı tarım uygulamalarının kullanılıyor olması gibi önemli avantajlara sahip olmasına rağmen, BİT cihaz sahipliği ve erişim imkânlarının yetersiz olduğu göstermektedir. Nesnelerin interneti (IoT) teknolojisinin her alanda kullanılabilir olması önemli bir fırsat olarak görülmekte olup, kırsal halkın tarımsal uygulamalarda BİT'e karşı mesafeli duruş göstermesi önemli bir tehdit olarak karşımıza çıkmaktadır.

Evaluation of The Role of Information and Communication Technologies in Rural Development Using A'WOT Analysis

Article Info

Received: 01.09.2020

Accepted: 28.01.2021

Online Published 30.06.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.788802

Keywords

Smart rural area,
A'WOT analysis,
ICT,
Rural development.

Abstract: Globalization and developing technology have caused the concept of rural development to change. In this context, the use of information and communication technologies (ICT) in rural areas should increase in order to keep pace with the globalizing world, contribute to socio-economic development and create smart and competitive rural areas. Although A'WOT technique has been used in various fields in the literature, it has been observed that there is not enough work in rural development studies except tourism. This study aims to determine the role of ICTs in putting ICT in rural development is to evaluate the potential of rural areas in Turkey A'WOT analysis. In numerical analysis, the opinions of 9 experts were used as data. Findings show that although the infrastructure of rural areas is highly completed and smart agriculture applications are used, ICT device ownership and access opportunities are insufficient. The fact that the Internet of Things (IoT) technology can be used in every field is seen as an important opportunity, and it is an important threat that rural people show a distant stance against ICT in agricultural practices.

1. Giriş

21. yüzyılda teknoloji gün geçtikçe değişmekte, gelişmekte ve teknolojinin kullanımı yaşam kalitesini iyileştirmektedir. Bilgi devrimi ile rekabet gücü artmakta, yeni ekonomik büyüme ve iş imkânları oluşmakta, hizmetlere daha iyi erişim sağlanmakta, yerel topluluklar daha da güçlenmeye başlamakta ve küresel ekonomi yeniden şekillenmeye başlamaktadır. Kırsal alanlarda yetersiz fiziksel erişim, sınırlı eğitim olanakları gibi pek çok sorun kırsal halkın bilgiye erişmesini engellemekte dijital bölünmeye yol açmaktadır (Öztaş, 2019).

Bilgi ve iletişim teknolojisi (BİT), iletişim sistemi, cihaz ve uygulamaları içinde barındırmaktadır. BİT'ler, ekonomik büyüme ve sosyal güçlendirme potansiyeline sahiptir (Tripathi, Singh ve Kumar, 2012). Hükümetler, işletmeler, özel kurumlar ve sivil toplum kuruluşlarının BİT kullanımındaki hızlı artışı, küresel olarak önemli sosyo-ekonomik gelişmelere yol açmıştır. BİT'in bu yaygın kullanımı hükümetler, işletmeler ve sıradan vatandaşlar arasında daha etkili yerel ve küresel bağlantılara olanak sağlamıştır. Aynı zamanda insanların geçim kaynaklarında önemli bir dönüşüme ve "bilgi toplumlarının" gelişmesine yol açmıştır. Modern BİT ve ilgili geleneksel teknolojilerin entegrasyonu sağlandıkça ortaya çıkan yeni bilgiler, dünyada özellikle eğitim, sağlık ve tarım konusunda kırsal kalkınmada etkili olmuştur (Maumbe ve Okello, 2013). BİT, dünya çapında kırsal kalkınma bağlamında etkili bir şekilde uygulanmaktadır (World Bank, 2005; Öztaş, 2019). Gelişmiş ülkeler yirmi yılı aşkın bir süredir BİT kullanımında dünyayı yönlendirmiş olsa da son yıllarda gelişmekte olan ülkelerin BİT kullanımında da ciddi oranda artış görülmektedir (ENRD, 2020; EU, 2020).

Kırsal kalkınma yoksulluk, cehalet ve fırsat eşitsizliğini ortadan kaldırma amaçlı sosyal yönden iyileştirmeyi içerdiği kadar, ekonomik yönden de iyileştirmeyi içermektedir. Gelişmekte olan ülkelerde çok sayıda insan kırsal alanlarda yaşamaktadır. Bu nedenle kırsal kalkınma ve bu bağlamda kırsal alan planlaması oldukça önemlidir. BİT'ler, kırsal ve kentsel yoksullukla mücadelede önemli bir rol oynamaktadır (EU, 2020). Hatta kırsal alanlarda ekonomik büyümenin tamamen BİT'lere bağlı olduğu söylenebilir (ENRD, 2020). Kırsal halk ve çiftçiler teknolojiyi kullanarak her şeyden haberdar olmakta ve verimlilik artmaktadır. Verimlilik artarsa, ekonomik büyüme ve kırsal kalkınma hızı artış göstermektedir (Tripathi ve ark., 2012).

Bu bağlamda BİT'in kırsal alanda kullanımını artırarak kırsal kalkınmayı sağlamak amacıyla stratejiler oluşturulmalı ve oluşturulan stratejiler çerçevesinde çalışmaların yapılması gereklidir. Strateji oluşturmak için genel olarak SWOT (GZFT) analizi kullanılmaktadır. Ancak SWOT analizi oluşturulan stratejilerin ya da faktörlerin önem derecesini nicel olarak belirleyememektedir. SWOT analizinin daha başarılı şekilde uygulanabilmesi için bu çalışmada A'WOT analizi kullanılmıştır.

Kapsamlı literatür taraması sonucunda A'WOT analizinin ekonomik yapı belirlemede, ormancılık alanında (Kurt, 2020), makine endüstrisinde, enerji sektörü ve enerji planlamasında (Gottfried ve ark., 2018), havacılık alanında (Bakır ve ark., 2017), su kaynaklarının yönetiminde, doğa koruma alanında, yönetim alanında ve stratejik planlama alanında (Etongoa ve ark., 2018), turizm alanında (Kişi, 2019) olmak üzere çeşitli alanlarda kullanıldığı görülmüştür. Araştırmacılar analizleri farklı amaçlar doğrultusunda kendi meslek disiplinlerine uyarlamışlardır. Literatürde çeşitli alanlarda A'WOT analizi kullanılmasına rağmen kırsal kalkınmaya yönelik çalışmalarda özellikle turizm konusu dışında yeterli sayıda çalışma olmadığı gözlenmiştir. Bu bağlamda bu çalışmada özellikle kırsal alanlar ve BİT konusuna odaklanılmıştır.

Bu çalışmanın amacı BİT'in kırsal kalkınmadaki rolünü ortaya koyarak Türkiye'deki kırsal alanların BİT potansiyelini A'WOT analizi ile değerlendirmektir. Bu amaç doğrultusunda ilk önce Türkiye'deki kırsal alanların BİT konusunda sahip olduğu güçlü ve zayıf yönler ile fırsatlar ve tehditler (SWOT) ortaya koyulmuştur. Sonrasında bu SWOT alt faktörlerinin öncelikleri sayısallaştırılmıştır. Sayısal çözümler için 9 uzmanın görüşünden yararlanılmıştır. SWOT faktörlerinin sayısallaştırılmasında AHP yöntemi kullanılmıştır.

1.1. BİT'in kırsal kalkınmadaki rolü

Bilgi iletişim teknolojileri, kırsal alanlarda tarım, eğitim ve sağlık alanlarının gelişimi için yeni uygulamalar ve yenilikler yaratmakta ve üretmektedir. Bu bölümde BİT'in temel olarak kırsal kalkınma ile yakından ilgili olan eğitim, tarım ve sağlık alanlarındaki rolüne kısaca değinilmektedir.

1.1.1. BİT ve sağlık

Sağlık, kırsal yoksulluğun azaltılması için en umut verici alanlardan biridir. Sağlık tesisleri, kırsal alanlarda en çok ihmal edilen konulardandır. Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerin genelinde kırsal alanlarda tesis yetersizliği ve zayıf iletişim gibi pek çok sebepten dolayı sağlık çalışanları bu alanları tercih etmemektedirler. Bu bağlamda, teknolojinin gelişmesi ile birlikte tanı ve tedaviyi kolaylaştırma ve uzaktan danışma için BİT'ler kullanılmaya başlanmıştır. Sağlık hizmetlerinin BİT'lerle sunulması ile özellikle uzak yerlerde ve nitelikli tıbbi personel ve hizmetlerden yoksun olan kırsal toplulukların tıbbi ihtiyaçlarının giderilmesi sağlanmaktadır (Ouma ve Herselman, 2008; Pramanik ve ark., 2017).

1.1.2. BİT ve eğitim

Eğitim, bir milletin omurgasıdır. Gelişmekte olan birçok ülkede coğrafi konum, sosyal ve ekonomik durum gibi pek çok sorundan dolayı kırsal alanda yaşayan öğrenciler eğitim alma konusunda zorluk yaşamaktadırlar. Kırsal alanlarda öğrenci sayısının fazla ve öğretmen sayısının yetersiz olması, eğitim yapılarının yetersiz kalitede olması, ulaşımın zor olması gibi sorunların da eklenmesiyle kırsal ve kentsel alanlarda eğitim alan öğrencilerin eğitim kalitesi arasında büyük bir uyumsuzluk ve eşitsizlik ortaya çıkmaktadır. BİT'in eğitimde kullanılması bu uyumsuzluğu ve eşitsizliği azaltmaktadır. BİT'in öğretim sisteminde kullanılması, geleneksel "öğretmen merkezli" öğretim modelinden "öğrenci merkezli" modele geçişi mümkün kılmaktadır. Farklı bir grup öğrenci, öğretmen yokluğunda bile eş zamanlı olarak eğitim ve öğretimine devam edebilmektedir (Roy ve ark., 2014).

BİT'ler, gelişmekte olan ülkelerin uzak kırsal bölgelerindeki eğitim kalitesini ve kapasitesini artırabilmektedir. BİT'ler kırsal toplumların öğretmenleri ve öğrencileri arasında bilgi paylaşımı yapmakta ve gelişmekte olan ülkelerdeki kırsal alanlar için farklı fırsatlar yaratmaktadır. Böylece eğitim kurumlarında ulusal, bölgesel, yerel düzeyde ve toplum düzeyinde eğitim verilmesi genel verimliliği artırmaktadır (Hepp, 2004). BİT'lerin eğitimde kullanımı, öğretimin ve öğrenmenin kalitesinin artırılmasını ve eğitime erişimi demokratikleştirmeyi amaçlamaktadır (Pramanik ve ark., 2017). Ayrıca BİT yetişkin eğitimi sağlamada da kullanılmaktadır. BİT tabanlı uzaktan eğitim tesisi ile çevrimiçi mesleki eğitim dersleri alınmaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde; bilgi toplumuna dönüşüm sürecinde, kırsal halkın bilinçlendirilmesinde, bilgilendirilmesinde ve BİT kullanım kabiliyetlerinin geliştirilmesinde BİT'in eğitim alanındaki rolünün oldukça büyük ve önemlidir (Hepp, 2004).

1.1.3. BİT ve tarım

Sanayileşmede gözle görülür bir artışa rağmen, tarım hala gelişmekte olan ülkelerin GSYİH'sında büyük bir paya sahiptir. Tarımda akıllı teknolojilere olan talep, esas olarak küresel nüfus patlamasının bir sonucudur. Büyüyen küresel nüfus ve bununla bağlantılı endüstriyel genişleme, gıda üretiminde büyük bir baskı yaratırken aynı zamanda mevcut ekilebilir arazinin genel alanını da azaltmaktadır. Küresel nüfus içindeki hızlı ivme nedeniyle, gıda talebi de artmakta, diğer yandan tarım emeği azalmaktadır. Bu bağlamda, bireysel çiftçiler ve kurumsal çiftlikler, akıllı tarım araç ve gereçlerini benimsemekte bu da gerekli gıda talebini karşılamak için yüksek miktarda ve yüksek kalitede ürün yetiştirmelerine yardımcı olmaktadır (Awuor ve ark., 2013).

Tarımda BİT kullanımı, tarım ve kırsal kalkınmanın geliştirilmesine odaklanan yeni bir alandır. Kırsal alanda BİT kullanmanın yenilikçi yollarının uygulanmasını içermektedir (Mahant ve ark., 2012). Bu nedenle akıllı teknolojiler sektörler arasında ilerlerken, tarım sektörü geride bırakılmamalıdır. Gelişmiş ekonomilerde özellikle tarım sektörü genelinde dikkate değer ölçüde artan bir talep kaydedilmiştir. Bu gelişmeler şu anda insan gücünü azaltacak ve tarımsal verimi artıracak şekilde uygulanmaktadır. BİT'deki ilerlemeler, çiftçilere doğru, zamanında ve ilgili bilgi ve hizmetler sağlamak ve böylece daha fazla gelir elde edilen tarım sektörü için bir ortam sağlamaktadır (Mahant ve ark., 2012). Çiftçilerin arazi koşullarını daha iyi anlamalarına yardımcı olmak için mikro denetleyici, bulut veya web tabanlı platform, kameralar, sensörler ve akıllı cihazlar gibi teknolojiler kullanılmaktadır (Mahant ve ark., 2012).

Kırsal alanda yaşayanlar ve özellikle tarım ile uğraşanlar, kuraklıktan erozyona, zararlılarla mücadeleden hastalığa, girdilerin sağlanmasından pazar fiyatları konusunda bilgiye gereksinim gibi pek çok sorunla mücadele etmektedirler. Bu sorunların çözümünde BİT'lere gereksinim duymaktadırlar. BİT'ler, çiftçilere tarım ve mahsul bakımı, hayvancılık, gübre ve hammadde girdileri, haşere kontrolü, tohum tedariki ve piyasa fiyatları gibi tarımla ilgili yararlı bilgiler sağlamaktadır (Pramanik ve ark., 2017). Bu bağlamda tarım sektörünün rekabet gücünün artırılması için BİT kullanımı desteklenmelidir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada BİT'in kırsal kalkınmadaki rolünü ortaya koyarak Türkiye'deki kırsal alanların BİT potansiyelini A'WOT analizi ile değerlendirebilmek amaçlanmıştır. Bunun için çalışma kapsamında ilk önce BİT'in kırsal kalkınma üzerindeki rolünün tespiti için özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan ve kırsal nüfusu yüksek ülkelerde yapılan çalışmalar incelenmiştir. Çünkü gelişmekte olan ülkeler, BİT'lerin gelişmesi ve kırsal alanlarda yaşanan yaklaşım değişikliği ile birlikte kırsal kalkınmaya yönelik daha fazla çalışma yapmaktadırlar.

Sonrasında A'WOT analizi için ilk önce SWOT analizi yapılmıştır. SWOT analizi için kırsal alan, kırsal kalkınma ve BİT konusunda literatür taraması yapılmıştır. Özellikle de Türkiye'de uluslararası ve ulusal kurum ve kuruluşların kırsal alan ve BİT konusuna yönelik hazırlanan raporları, strateji belgeleri ve projeleri detaylı incelenmiştir. İncelenen belgeler arasında: "Kırsal Kalkınma Eylem Planı (2015-2018)", "Avrupa Birliği Katılım Öncesi Yardım Aracı Kırsal Kalkınma Programı (IPARD) (2014-2020)", "Kırsal Kalkınma Planı (2010-2013)", "Onuncu Kalkınma Planı (2014-2018)", "E-Avrupa Girişimi", "Bilişim ve Ekonomik Modernizasyon Raporu", "E-dönüşüm Türkiye Projesi", "Türkiye Ulusal Enformasyon Altyapısı Ana Planı: Sonuç Raporu", "Bilgi Toplumu Stratejisi (2006-2010)" ve "2015-2018 Bilgi Toplumu Stratejisi ve Eylem Planı" yer almaktadır.

Daha sonra SWOT alt faktörleri Analitik Hiyerarşi Prosesi (AHP) yöntemi kullanılarak sayısallaştırılmıştır. Sayısallaştırma aşamasında ilk önce faktörlerin ikili karşılaştırma matrisi yapılmıştır. Bunun için "Çizelge 1."de yer alan ikili karşılaştırma ölçeği kullanılmıştır. 01.06.2020-30.07.2020 tarihleri arasında çevrimiçi hazırlanan ikili karşılaştırma anketleri 12 uzmana gönderilmiştir. Bu örneklem, Türkiye'de kamu kurum ve kuruluşlarında çalışan kişilerden oluşmaktadır. Ankete Kültür ve Turizm Bakanlığı'ndan 1 kişi, Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan 1 kişi, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı'ndan 1 kişi, Çevre ve Şehircilik Bakanlığı'ndan 2 kişi ve akademisyenlerden 4 kişi olmak üzere toplam 9 uzmandan geri dönüş gelmiştir. 9 uzman A'WOT analizinin yapılabilmesi için yeterli olduğundan sayısal çözümler yapılmaya başlanmıştır. Sonrasında matrisin en büyük öz vektörü hesaplanarak öncelikler bulunmuştur. Bu süreçte faktörlerdeki tutarlılıklar da hesaplanmıştır. Ayrıca faktörler arasında kıyaslama yapılırken tutarlı davranılıp davranılmadığını ölçmek amacıyla tutarlılık oranına bakılmıştır. Tutarlılık oranının 0.10'un altında olması matrisi tutarlı yapmaktadır.

Çizelge 1. AHP'de kullanılan ikili karşılaştırma ölçeği

Önem Derecesi	Tanım	Açıklama
1	Eşit önemli	Amaç için iki seçenek de eşit öneme sahiptir.
3	Orta derece önemli	Bir seçenek diğerine göre biraz daha önemlidir.
5	Yüksek derece önemli	Bir seçenek diğerine göre oldukça önemlidir.
7	Çok yüksek derece Önemli	Bir seçenek diğerine göre yüksek biçimde önemlidir.
9	Son derece önemli	Bir seçenek diğerine göre oldukça yüksek biçimde önemlidir.
2,4,6,8	Ara değerler	İki seçenek arasında orta bir değer vermek gerektiğinde kullanılmaktadır.

Kaynak: Saaty, 1980:21.

3. Bulgular

Uygulamanın ilk aşamasında SWOT analizi yapılmıştır. Çalışma kapsamında kırsal alan, kırsal kalkınma ve BİT konusunda literatür taraması ve uluslararası ve ulusal kurum ve kuruluşların

kırsal alan ve BİT konusuna yönelik hazırlanan raporları, strateji belgeleri, projeleri detaylı incelenerek oluşturulan SWOT analizi aşağıda verilmiştir.

Güçlü Yönler (G)

- S1- Elektrik ve iletişim altyapısının yüksek oranda tamamlanmış olması
- S2- Dokuzuncu Kalkınma Planı'ndan itibaren gelişen teknolojiye ayak uydurma bağlamında "Türkiye'nin bilgi toplumuna dönüşmesi" vizyonunun olması.
- S3- 1993 yılından itibaren bilgi toplumuna dönüşüm sürecinde oluşturulan politika metinlerinin ve araçlarının bulunması
- S4- 2006-2010 ve 2015-2018 Bilgi Toplumu Stratejisi ve Eylem Planı'nın yapılması
- S5- Ülkemizde akıllı tarım uygulamalarının kullanılmaya başlanması
- S6- Kırsal halkın BİT'ler konusunda farkındalığının artmaya başlaması
- S7- Türkçe sayısal içerik ve uygulamaların varlığı

Zayıf Yönler (Z)

- Z1- Ar-Ge faaliyetlerinde finansal kaynakların yetersiz ve koordinasyonda eksikliğin olması
- Z2- BİT cihaz sahipliği ve erişim imkânlarının yetersiz olması
- Z3- BİT'in bilinçli kullanımının yeteri kadar teşvik edilmemesi
- Z4- Halkın sayısal becerilerinin yetersiz olması
- Z5- Türkçe sayısal içerik ve uygulamalarının geliştirilme ihtiyacının olması
- Z6- Yeni teknolojilere dayalı telekomünikasyon altyapılarının yeterli olmaması
- Z7- Türkiye'de kırsal kalkınma politikalarında BİT'lerin yer almaması ya da kavramsal olarak yer alması
- Z8- Bilgi toplumuna dönüşüm sürecinde kırsala yönelik politika metinlerinin ve araçlarının yetersiz olması
- Z9- 2006-2010 ve 2015-2018 Bilgi Toplumu Stratejisi ve Eylem Planı'nda kırsala yönelik stratejilerin yetersiz olması

Fırsatlar (F)

- F1- Haberleşme ve bilişim teknolojisindeki gelişme
- F2- Dış pazarlara erişim imkânlarının güçlenmesi
- F3- Uluslararası kaynaklara/fonlara erişebilirlik
- F4- BİT fiyatlarında azalma
- F5- OECD'nin BİT'lere, Dünya Bankası'nın da iklim-akıllı tarım uygulamalarına destek veriyor olması
- F6- Nesnelerin interneti (IoT) teknolojisinin her alanda kullanılabilirliği olması
- F7- Tarım alanında akıllı tarım uygulamaları kapsamında; iklim koşullarının izlenmesi, sera otomasyonu, mahsul yönetimi, hayvanların izlenmesi ve yönetimi, toprak kalite denetimi, zararlıların kontrolü, uçtan uca çiftlik yönetim sistemleri, kindle e-kitapları, akıllı sulama sistemlerinin kullanılması
- F8- BİT'in sağlık alanında (teletıp, uzaktan sağlık izleme, acil bildirim sistemleri vb) kullanımının artması
- F9- BİT'in eğitim alanında (telekonferans, uzmanlarla video konferans, e-kitaplar vb) kullanımının artması

Tehditler (T)

- T1- İklim koşullarında meydana gelen değişikliklerin üretimi etkilemesi
- T2- Tarımsal üretimde doğal şartlardan kaynaklanan risk ve belirsizliklerin olması
- T3- Dünyadaki kırsal kalkınma politikalarında BİT'lerin çok az yer alması
- T4- Veri korsanlığı-Siber saldırı
- T5- Avrupa'daki kırsal alanların küresel pazardan pay almaya başlaması
- T6- Özel firmaların kırsal alanda BİT uygulamalarının kullanımına yönelik finansal desteklerinin yetersiz olması
- T7- Kırsal halkın tarımsal uygulamalarda BİT'e karşı mesafeli duruş göstermesi

Uygulamanın ikinci aşamasında uzman 9 kişinin görüşü alınarak ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Bu süreçte iki faktörden hangisinin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymak amaçlanmıştır. Faktörlerin önem sırası belirlenirken Çizelge 1'deki ölçek dikkate alınmıştır. AHP yöntemi ile matrisin öz değerleri belirlenerek SWOT faktörleri sayısallaştırılmıştır (Çizelge 2.).

Tablo 2. Uygulama sonucunda elde edilen ağırlıklar ve tutarlılık oranları

Temel Faktör	Alt Faktörler	Ağırlıklar	Tutarlılık Oranı
Güçlü yönler	G1- Elektrik ve iletişim altyapısının yüksek oranda tamamlanmış olması	0.327	0.073
	G2- Dokuzuncu Kalkınma Planı'ndan itibaren gelişen teknolojiye ayak uydurma bağlamında "Türkiye'nin bilgi toplumuna dönüşmesi" vizyonunun olması	0.13	
	G3- 1993 yılından itibaren bilgi toplumuna dönüşüm sürecinde oluşturulan politika metinlerinin ve araçlarının bulunması	0.216	
	G4- 2006-2010 ve 2015-2018 Bilgi Toplumu Stratejisi ve Eylem Planı'nın yapılması	0.083	
	G5- Ülkemizde akıllı tarım uygulamalarının kullanılmaya başlanması	0.157	
	G6- Kırsal halkın BİT'ler konusunda farkındalığının artmaya başlaması	0.064	
	G7- Türkçe sayısal içerik ve uygulamaların varlığı	0.023	
Zayıf Yönler	Z1- Ar-Ge faaliyetlerinde finansal kaynakların yetersiz ve koordinasyonda eksikliğin olması	0.104	0.036
	Z2- BİT cihaz sahipliği ve erişim imkânlarının yetersiz olması	0.19	
	Z3- BİT'in bilinçli kullanımının yeteri kadar teşvik edilmemesi	0.054	
	Z4- Halkın sayısal becerilerinin yetersiz olması	0.176	
	Z5- Türkçe sayısal içerik ve uygulamalarının geliştirilme ihtiyacının olması	0.059	
	Z6- Yeni teknolojilere dayalı telekomünikasyon altyapılarının yeterli olmaması	0.23	
	Z7- Türkiye'de kırsal kalkınma politikalarında BİT'lerin yer almaması ya da kavramsal olarak yer alması	0.021	
	Z8- Bilgi toplumuna dönüşüm sürecinde kırsala yönelik politika metinlerinin ve araçlarının yetersiz olması	0.131	
	Z9- 2006-2010 ve 2015-2018 Bilgi Toplumu Stratejisi ve Eylem Planının yapılması kırsala yönelik stratejilerin yetersiz olması	0.035	
Fırsatlar	F1- Haberleşme ve bilişim teknolojisindeki gelişme	0.212	0.072
	F2- Dış pazarlara erişim imkânlarının güçlenmesi	0.039	
	F3- Uluslararası kaynaklara/fonlara erişebilirlik	0.037	
	F4- BİT fiyatlarında azalma	0.084	
	F5- OECD'nin BİT'lere, Dünya Bankası'nın da iklim-akıllı tarım uygulamalarına destek veriyor olması	0.023	
	F6- Nesnelerin interneti (IoT) teknolojisinin her alanda kullanılabilirliği	0.31	
	F7- Tarım alanında akıllı tarım uygulamaları kapsamında; iklim koşullarının izlenmesi, sera otomasyonu, mahsul yönetimi, hayvanların izlenmesi ve yönetimi, toprak kalite denetimi, zararlıların kontrolü, uçtan uca çiftlik yönetim sistemleri, kindle e-kitapları, akıllı sulama sistemlerinin kullanılması	0.158	
	F8- BİT'in sağlık alanında (teletıp, uzaktan sağlık izleme, acil bildirim sistemleri vb) kullanımının artması	0.067	
	F9- BİT'in eğitim alanında (telekonferans, uzmanlarla video konferans, e-kitaplar vb) kullanımının artması	0.069	
Tehditler	T1- İklim koşullarında meydana gelen değişikliklerin üretimi etkilemesi	0.071	0.057
	T2- Tarımsal üretimde doğal şartlardan kaynaklanan risk ve belirsizliklerin olması	0.233	
	T3- Dünyadaki kırsal kalkınma politikalarında BİT'lerin çok az yer alması	0.033	
	T4- Veri korsanlığı-Siber saldırı	0.156	
	T5- Avrupa'daki kırsal alanların küresel pazardan pay almaya başlaması	0.055	
	T6- Özel firmaların kırsal alanda BİT uygulamalarının kullanımına yönelik finansal desteklerinin yetersiz olması	0.114	
	T7- Kırsal halkın tarımsal uygulamalarda BİT'e karşı mesafeli duruş göstermesi	0.337	

Güçlü yönler ana faktörünü oluşturan 7 alt faktörün ağırlıkları incelendiğinde; G1 alt faktörü % 32.7, G3 alt faktörü % 21.6, G5 alt faktörü % 15.7, G2 alt faktörü % 13, G4 alt faktörü % 8.3, G6 alt faktörü % 6.4 ve G7 alt faktörü % 2.3 seviyesinde bulunmuştur.

Zayıf yönler ana faktörünü oluşturan 9 alt faktörün ağırlıkları incelendiğinde; Z6 alt faktörü % 23, Z2 alt faktörü % 19, Z4 alt faktörü % 17.6, Z8 alt faktörü % 13.1, Z1 alt faktörü % 10.4, Z5 alt faktörü % 5.9, Z3 alt faktörü % 5.4, Z9 alt faktörü % 3.5 ve Z7 alt faktörü % 2.1 seviyesinde bulunmuştur.

Fırsatlar ana faktörünü oluşturan 9 alt faktörün ağırlıkları incelendiğinde; F6 alt faktörü % 31, F1 alt faktörü % 21.2, F7 alt faktörü % 15.8, F4 alt faktörü % 8.4, F9 alt faktörü % 6.9, F8 alt faktörü % 6.7, F2 alt faktörü % 3.9, F3 alt faktörü % 3.7 ve F5 alt faktörü % 2.3 seviyesinde bulunmuştur.

Tehditler ana faktörünü oluşturan 7 alt faktörün ağırlıkları incelendiğinde ise; T7 alt faktörü % 33.7, T2 alt faktörü % 23.3 T4 alt faktörü % 15.6, T6 alt faktörü % 11.4, T1 alt faktörü % 7.1, T5 alt faktörü % 5.5 ve T3 alt faktörü % 3.3 seviyesinde bulunmuştur.

SWOT gruplarını oluşturan alt faktörlerin ağırlıklarının belirlenmesiyle, tutarlılık oranları da hesaplanmıştır. Tutarlılık oranı, güçlü yönler için 0.073, zayıf yönler için 0.036, fırsatlar için 0.072 ve tehditler için 0.057'dir. Hesaplanan bu tutarlılık oranları, ikili karşılaştırma matrislerinin tutarlı olduğunu ifade etmektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Küreselleşme ve gelişen teknoloji kırsal kalkınma kavramının da değişmesine neden olmuştur. Bu bağlamda küreselleşen dünyaya ayak uydurabilmek, sosyo-ekonomik gelişmeye katkı sağlamak ve akıllı ve rekabetçi kırsal alanlar oluşturabilmek amacıyla için BİT'lerin kırsal alanlarda kullanımının artması gerekmektedir. BİT'in kırsal alanda kullanımı ile dijital bölünme azalacak, eğitim, sağlık ve tarım sektöründeki kalite artacak, doğal kaynakların izlenmesi ve korunması kolaylaşacaktır.

BİT'lerin kullanımında ve gelişiminde altyapının önemi kaçınılmazdır. Şu an Türkiye'nin hemen hemen her noktasında elektrik ve iletişim altyapısı tamamlanmış durumdadır. Bu durum kırsal alanların teknoloji ile entegrasyonun sağlanmasına önemli katkılar sağlayacaktır. Ancak altyapı kadar önemli olan da BİT cihaz sahipliği ve buna erişimdir. Kırsal halkın BİT cihaz sahipliğinin yetersiz olması, ekonomik anlamda BİT'e erişim güçlerinin zayıf olması ve kırsal halkın sayısal becerilerinin yetersiz olması BİT'in kırsal alanlarda kullanımının az olmasına neden olmaktadır. Çünkü kırsal kalkınmanın sağlanabilmesi için kırsal halkın uygun alanlarda geliştirilen BİT uygulamalarına sahip ve kullanabiliyor olması gerekmektedir. Özellikle 1993 yılından itibaren bilgi toplumuna dönüşüm süreci kapsamında bu konu ile ilgili çalışmaların yapılmaya başlanmış olması bu durumun farkındalığının yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak bu çalışmalarda kırsal alanlara çok fazla yer verilmemesi kentsel alan ile kırsal alan arasındaki dengenin daha da bozulmasına neden olmuştur.

Türkiye'deki kırsal halkın ekonomik anlamda birincil geçim kaynağının tarım olması BİT'in özellikle bu alanda kullanımını yaygınlaştırmıştır. Dünyada nesnelerin interneti (IoT) teknolojisi her alanda kullanılmaktadır. Özellikle tarım alanında iklim koşullarının izlenmesi, sera otomasyonu, mahsul yönetimi, hayvanların izlenmesi ve yönetimi, toprak kalite denetimi, zararlıların kontrolü, uçtan uca çiftlik yönetim sistemleri, kindle e-kitapları, akıllı sulama gibi uygulamalar ile kullanılmaktadır. Bu uygulamalar tarımda verimliliği ve elde edilen ekonomik kazancı artırmaktadır. Ayrıca doğal şartlardan kaynaklanan risklerin ve belirsizliğin de azalmasına neden olmaktadır. BİT'lerin kullanımının yaygınlaşması, veri korsanlığının yaşanması ve muadil ürünlerin ortaya çıkması BİT fiyatlarının düşmesine neden olmuştur. Bu da halkın BİT cihaz sahipliğini artırmaları için önemli bir fırsat sunmaktadır. Ancak BİT'in kırsal alanda kullanımının artırılması için özellikle bu alana yönelik uygulamaların ve finansal desteklerin artması gerekmektedir. Bu bağlamda da sadece devlet desteği değil özel şirketlerin de kırsal alanda BİT uygulamalarının kullanımına yönelik finansal desteklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu destek ile kırsal kalkınma daha dengeli sağlanmış olacaktır. Çünkü akıllı ve rekabetçi kırsal alanlar oluşturabilmek için BİT'in sadece tarımda değil eğitim, sağlık, ekonomi gibi bireylerin yaşam kalitesini artıracak alanlarda da kullanımının artması gerekmektedir. Günümüzde özellikle gelişmekte olan ülkelerin kırsal alanlarda BİT'leri kullanması ve kırsal kalkınmanın artması bu durumu destekler niteliktedir.

Bu çalışmada, yaygın bir planlama aracı olan SWOT, çok kriterli karar verme yöntemlerinden biri olan AHP ile entegre edilerek, BİT'in Türkiye'deki kırsal alanlardaki potansiyelinin

değerlendirilmesine yönelik olarak kullanılmıştır. Böylece SWOT analizinin kullanılabilirliğini geliştirmek hedeflenmiştir. Sonuçlar nicel bilgiler sunularak açıklayıcı bir şekilde sunulmuştur. Ayrıca uzman görüşüne dayanan A'WOT analizi yapmak karar verme süreciyle ilgili olarak farklı paydaşların görüşlerini incelemek için iyi bir fırsat oluşturmaktadır. BİT'den yola çıkarak Türkiye'deki kırsal alanların teknoloji ile entegrasyonu sürecinde önceliklendirilmesi gereken faktörleri ortaya koyan bu çalışma; literatüre, kırsal alanların nicel bilgi tabanlarının güçlendirilmesine ve bu konu ile ilgili çalışan araştırmacılara önemli katkı sunmaktadır.

Kaynakça

- Awuor, F., Kimeli, K., Rabah, K., & Rambim, D. (2013, Mayıs). *ICT solution architecture for agriculture* Paper presented at the IEEE 2013 IST-Africa Conference & Exhibition, Kenya.
- Bakır, M., Bal, H.T., & Akan, Ş. (2017). Türk sivil havacılık sektörünün değerlendirilmesinde bütünlük SWOT-AHS yaklaşımı. *Journal of Aviation*, 1(2), 154-169.
- ENRD (Avrupa Kırsal Kalkınma Ağı). (2020). Kırsal değerlendirme haberleri. https://enrd.ec.europa.eu/evaluation/publications/evaluation-helpdesks-publications-rural-evaluation-news_en Erisim tarihi: 22.06.2020.
- Etongoa, D., Kannien, M., Epule, T., & Fobissie, K. (2018). Assessing the effectiveness of joint forest management in Southern Burkina Faso: A SWOT-AHP analysis. *Forest Policy and Economics*, 90, 31-38.
- EU (Avrupa Birliği). (2020). Tarım ve kırsal kalkınma. https://ec.europa.eu/info/departments/agriculture-and-rural-development_en Erişim tarihi: 19.06.2020.
- Gottfried, O., De Clerc, D., Blair, E., Weng, X., & Wang, C. (2018). SWOT-AHP-TOWS analysis of private investment behavior in the Chinese biogas sector. *Journal of Cleaner Production*, 184, 632-647.
- Hepp, P., Hinostroza, E., Laval, E., & Rehbein, L. (2004). *Technology in Schools: Education, ICT and The Knowledge Society*. World Bank, Washington, DC.
- Kişi, N. (2019). A strategic approach to sustainable tourism development using the A'WOT Hybrid Method: A case study of Zonguldak, Turkey. *Sustainability*, 11(4), 964.
- Kurt, R. (2020). Determining the priorities in utilization of forest residues as biomass: An A'WOT analysis. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 14(2), 315-325.
- Mahant, M., Shukla, A., Dixit, S., & Patel, D. (2012). Uses of ICT in agriculture. *International Journal of Advanced Computer Research*, 2(1), 46.
- Maumbe, B. M., & Okello, J. J. (2013). Uses of information and communication technology (ICT) in agriculture and rural development in sub-Saharan Africa: Experiences from South Africa and Kenya. *In Technology, Sustainability, and Rural Development in Africa*. doi: 10.4018 / 978-1-4666-3607-1.ch009.
- Ouma, S., & Herselman, M.E. (2008). E-Health in rural areas: case of developing countries. *International Journal of Biological and Life Sciences*, 4(4), 194-200.
- Öztaş, R.G. (2019). *Planlamada BİT destekli yenilikçi çözümlerin kırsal alana entegrasyonu: Vodafone Akıllı Köy örneği*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Pramanik, J., Sarkar, B., & Kandar, S. (2017). Impact of ICT in rural development: perspective of developing countries. *American Journal of Rural Development*, 5(4), 117-120.
- Roy, A., Kihzoa, P., Suhonen, J., Vesisenaho, M., & Tukiainen, M. (2014). Promoting proper education for sustainability: an exploratory study of ICT enhanced problem based learning in a developing country. *International Journal of Education and Development using Information and Communication Technology*, 10(1), 70-90.
- Saaty, T. L. (1980). *The Analytic Hierarchy Process: Planning, Priority Setting, Resource Allocation*, McGraw-Hill, New York.
- Tripathi, A.M., Singh, A.K., & Kumar, A. (2012). Information and communication technology for rural development. *International Journal on Computer Science and Engineering*, 4(5), 824.
- World Bank. (2005). *Information and Communication Technologies for Rural Development: Issues and Options*. Volume 1. Main Report and Annexes, Washington, DC.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



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

Derleme Makalesi (Review Article)

Enzimatik Hidroliz Yöntemi Kullanılarak Balık İşleme Atıklarından Balık Protein Hidrolizatı Üretimi

Koray KORKMAZ^{*1}, Bahar TOKUR², Yılmaz UÇAR³

^{1,2,3}Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, Ordu, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-2940-6592> ²<https://orcid.org/0000-0002-6770-6652> ³<https://orcid.org/0000-0002-7087-5801>

*Sorumlu yazar e-posta: koraykorkmazodu@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 25.11.2020
Kabul: 05.02.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.831067

Anahtar kelimeler

Balık atığı,
Protein hidrolizat,
Enzimatik hidroliz.

Öz: Balık atıkları besinsel açıdan değerli, fonksiyonel özelliklere sahip ve kolay sindirilebilir, ekonomik değeri yüksek proteinli ürünlere dönüştürülebilirler. Balık işleme atıklarından kullanılabilir gıda ve biyoaktif bileşiklerin dönüşümü ile ilgili çalışmalara ve ticari üretime ağırlık verilmiştir. Balık protein hidrolizatları (BPH) ticari ürün olarak fonksiyonel gıda, hayvansal yem, organik gübre ve evcil hayvan gıdası olarak kullanıldığı gibi BPH' larının içerdikleri nutrasötik özellikteki biyoaktif peptitler ile antihipertansif, antitrombotik, antikanser, immunomodulator ve antioksidan aktivitesi gösterdikleri için tıp ve farmakoloji alanında da değerlendirilmektedir. Hidrolizatlarının besleyici özelliklerinin, diğer protein hidrolizatlarından daha dengeli ve üstün olduğunu göstermektedir. Protein hidrolizatı üretmek için kimyasal ve enzimatik olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Son zamanlarda; daha düşük sıcaklık, basınç ve 5-8 arası bir pH aralığı kullanıldığı için enzimatik yöntemle hidrolizat üretimini daha cazip hale getirmiştir. Hidrolizasyonun en etkili göstergesi hidroliz derecesi (HD(%)) olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara göre, protein geri kazanımı için parçalanmış peptit bağlarının daha yüksek olması, HD(%)' nin yükselmesine neden olmaktadır. Küçük molekül ağırlığına sahip proteinlerin suda daha fazla çözünürlüğü, hidrolizatın protein geri kazanımını artırarak, fonksiyonel özelliklerini daha kullanılabilir hale getirmektedir. Araştırmalarda elde edilen farklı değerlerin balık türlerine, atık kompozisyonuna, enzim türüne, hidroliz yöntemine (sıcaklık, süre ve enzim oranı) göre değişebileceği görülmektedir. Bu çalışmada balık işleme atıklarından enzimatik hidroliz yöntemi kullanılarak balık protein hidrolizatı üretimi konusu derlenmiştir.

Production of Fish Protein Hydrolyzate Using Enzymatic Hydrolysis from Fish Processing Wastes

Article Info

Received: 25.11.2020
Accepted: 05.02.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.831067

Abstract: Fish waste can be transformed into nutritionally valuable, functional and easily digestible protein products with high economic value. Studies on the transformation of usable food and bioactive compounds from fish processing wastes and commercial production were focused. Fish protein hydrolyzates (FPH) are used as functional food, animal feed, organic fertilizer and pet food as commercial products, as well as in the field of medicine and pharmacology as they show antihypertensive, antithrombotic, anticancer, immunomodulatory and antioxidant activities with the nutraceutical properties they contain. It shows that

Keywords

Fish waste,
Protein hydrolysate,
Enzymatic hydrolysis.

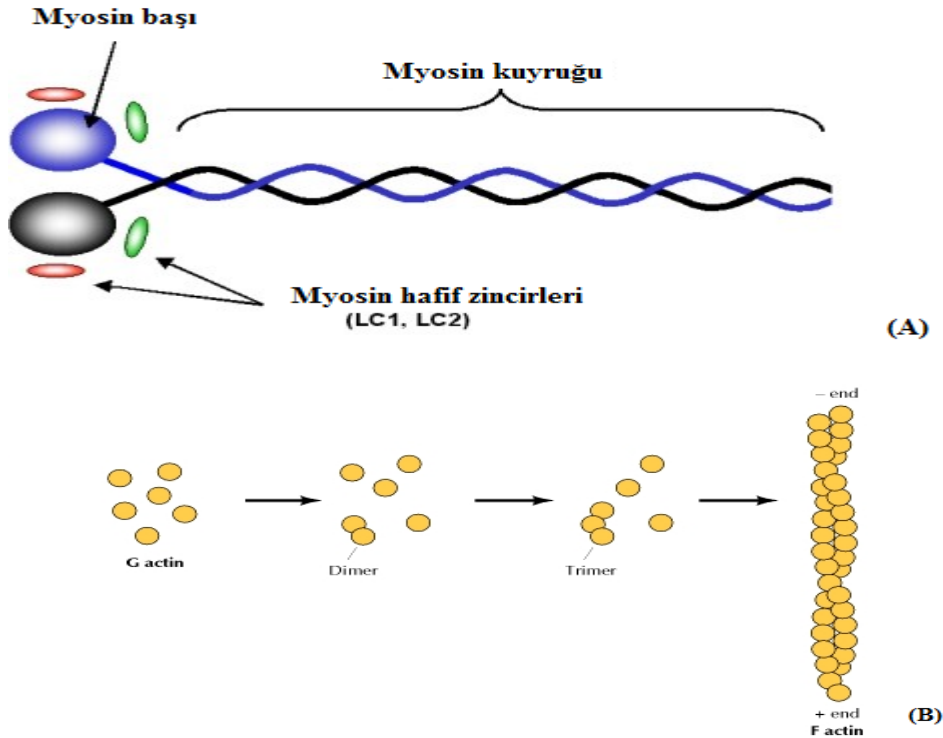
the nutritional properties of fish hydrolyzates are more balanced and superior than other protein hydrolyzates. Two different methods, chemical and enzymatic, are used to produce protein hydrolyzate. Recently; It has made the production of hydrolyzate by enzymatic method more attractive as it uses lower temperature, pressure and a pH range of 5-8. The most effective indicator of hydrolysis was used as HD (%). According to the findings obtained from the studies conducted, it has been determined that higher cleaved peptide bonds for protein recovery cause HD (%) to increase. It has been reported that proteins with smaller molecular weights have greater solubility in water, thus increasing the protein recovery of the hydrolyzate and making its functional properties more useful. It is seen that the different values obtained in the studies may vary according to the fish species, waste process, enzyme type, hydrolysis method (temperature, time and enzyme ratio). In this study, the production of fish protein hydrolyzate from fish processing wastes by using enzymatic hydrolysis method was compiled.

1. Giriş

Dünyada artan nüfusun, protein ihtiyacının desteklenmesi için su ürünleri yetiştiriciliği en hızlı büyüyen gıda üretim sektörüdür (FAO, 2018). Ülkemizde balık atıklarının bir kısmından genellikle biyolojik değeri ve ekonomik değeri düşük balık unu elde edilmektedir. Geri kalanı da değerlendirilmeden kirlilik etmeni olarak çevreye atılmaktadır. Halbuki bu kaynaklar besinsel açıdan değerli, fonksiyonel özelliklere sahip ve kolay sindirilebilir, ekonomik değeri yüksek proteinli ürünlere dönüştürülebilirler (Ceylan, 2018; Uçar, 2020). Genel olarak, fileto olarak değerlendirilen balıkların % 60-70' ini balık kafaları, deri, pul, kemik, iç organlar ve işlenemeyen et parçaları oluşturmaktadır. Avrupa Birliği, Altıncı Çevre Eylem Planı'nın dört önceliğinden biri olarak atık yönetimi belirlenmiş ve atığın kaynağında önlenmesinin yanı sıra geri dönüşümün teşvik edilmesi, kaçınılmaz olan atığın kaynak olarak kullanımı ve ek doğal kaynakların çıkarılması AB atık yönetimi politikalarının ana unsurlarını teşkil etmiştir. Bu nedenle, bu ülkelerde balık işleme atıklarından kullanılabilir gıda ve biyoaktif bileşiklerin elde edilmesi ile ilgili çalışmalara ve ticari üretime ağırlık verilmiştir. Ülkemizde ise bu atıkların çok az bir kısmı hayvan yeminde kullanılmak üzere cuzi bir ücretle balık unu üreten fabrikalara satılmaktadır. Fakat buradan elde edilen balık ununun biyolojik değeri oldukça düşüktür. Geriye kalanı ise değerlendirilmeden direkt kirlilik unsuru olarak çevreye bırakılmaktadır. Balık protein hidrolizat üretimi (FPH) ile elde edilen hidrolizat geleneksel balık unu üretimi ile karşılaştırıldığında, birçok farklı amaçla kullanılacak özelliklere sahip bir ürün olarak katma değeri yüksek bir ürün haline dönüştürülür. Protein hidrolizi üretmek için kimyasal ve enzimatik olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemde, yüksek sıcaklık (120 °C) ve basınç (100 kPa) altında asit veya alkali koşullar uygulanmaktadır. Bu yöntem daha ekonomik üretim maliyetine sebep olsa da hidrolizatta arzu edilen fonksiyonel özelliklerinin kaybolmasına ve ekipman korozyonuna sebep olduğu için son yıllarda çok tercih edilmemektedir. Enzimatik yöntemde ise, daha düşük sıcaklık, basınç ve 5-8 arası bir pH aralığı kullanıldığı için bu dezavantajların büyük bir çoğunluğu oluşmaz. Bu durum, son zamanlarda enzimatik yöntemle hidrolizat üretimini daha cazip hale getirmiştir (Diniz ve Martin, 1997; Sathivel ve ark., 2005; Slizyte ve ark., 2005). Yüksek katma değerli protein hidrolizatlarını (PH) üretmek için iyi tanımlanmış protein hidrolizatları enzimatik yöntemle üretilmiştir. Proteinler kolaylıkla, düşük sıcaklık ve pH koşullarında deaktive edilir. Balık ve atıklarından protein hidrolizati üretmek için ticari olarak kullanılan birçok enzim bulunmaktadır. Bromelain (Aspmo ve ark., 2005) ve papain (Hoyle ve Merritt, 1994) gibi bitkisel kaynaklı, kimotripsin, tripsin (Simpson ve ark., 1998) ve pepsin (Viera ve ark., 1995) gibi hayvansal kaynaklı veya alkalaz, nötraz, flavourenzim, protameks ve proteaz N (Kristinsson ve Rasco, 2000a; Guèrard ve ark., 2001; Liaset ve ark., 2002) gibi mikrobiyolojik kaynaklı enzimler balık protein hidrolizatının üretiminde kullanılmıştır. Enzimatik hidroliz, çeşitli enzimlerin kullanımı sayesinde, üreticinin en iyi ürünü elde etmesine olanak sağlamaktadır. Su ürünlerinden protein hidrolizatının ticari bir ürün haline dönüştürülebilmesi için değerlendirilemeyen ve avcılık yoluyla üretim miktarı yüksek olan türlerin tespitine yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Araştırma kapsamında ikincil verilerden yararlanılmış olup, balık atıklarının değerlendirilmesi, hidrolizat yöntemlerinin karşılaştırılması ve üretim aşamaları ile ilgili olarak bilimsel çalışmalar incelenmiş olup, literatüre katkı sağlaması ve farkındalık oluşturması amacıyla bu derleme çalışması hazırlanmıştır.

1.1. Balık atığı proteinleri

Balık atıklarında önemli miktarda protein bulunduğu bildirilmektedir. Raghavan (2008), balık atığındaki protein miktarının balıktaki toplam proteinin % 10-20'sine kadar (ağırlık/ağırlık) bulunabileceğini bildirmiştir. Balıktaki pullar ve deriye ek olarak balık kemiği çok iyi bir kolajen ve jelatin kaynağıdır. Balık ve kabuklu deniz hayvanları kas proteinleri sarkoplazmik, miyofibriler ve stroma proteinleri olmak üzere üç ana gruptan oluşur. Sarkoplazmik proteinler (su veya düşük tamponlu çözeltilerde çözülebilir), sarkoplazmada mevcut olan, yaklaşık olarak toplam kas dokusu proteininin % 15-35'ini kapsar. Bu proteinler esasen enerji ile ilişkili kreatin kinaz, aldolaz, gliseraldehit ve 3 fosfat dehidrojenaz gibi enzimlerden oluşur. Türlerle bağlı olarak miyoglobin ve hemoglobin gibi pigmentli proteinler suda çözünür protein sınıfında bulunabilirler. Sarkoplazmik proteinlerin içeriği ve bileşimi türler arasında değişiklik gösterebilir. Örneğin bazı yumuşakçalarda hemoglobin yoktur. Ayrıca, balıklar ve memeli sarkoplazmik proteinleri arasında kompozisyon içerikleri bakımından da farklılıklar görülebileceği bildirilmiştir (Belitz ve ark., 2004). Örneğin balık miyoglobini sistein amino asitini içerirken, buna karşılık memeli myoglobini bu aminoasiti içermemektedir. Myofibriller proteinler, yüksek tuzlu çözeltilerde çözünen yapısal proteinlerdir. Bu proteinlerin oranı balık kaslarındaki toplam proteininin % 65-75'ini kapsar. Yapısal proteinler içerisinde en çok orana sahip olan aktin ve miyosin, kasların kasılmasından sorumlu iki kas proteindir. Miyosin yapısal proteinlerin % 50 ile % 58 arasında aktin ise % 15-20 arasında kapsamaktadır. Miyosin iki ağır (223 kDa) ve iki hafif zincir (22 ve 18 kDa) içeren büyük bir moleküldür. Molekül hafif zincirleri içeren bölgeler ve ağır zincirlerin önemli bir kısmı iki tane aynı küresel kafa yapısına sahiptir. Kuyruklar, ağır zincirlerin çok uzun α -heliks oluşturduğu birbirini saran sarmallar oluştururlar (Şekil 1A) (Blaber, 2001). Aktin iki şekilde oluşur: küresel monomer G-aktin ve miyosine bağlanan büyük bir polimer olan F-aktin dir. İnce filamentler kas kasılmasını düzenleyerek çok önemli bir rol oynar (Şekil 1B) (Anonim, 2006). Diğer kasılma ile ilişkili yapısal ve düzenleyici proteinler ve miyofibriler proteinleri, tropomiyosin, troponin, aktinin, desmin, nebülün ve C ve M proteinleridir.



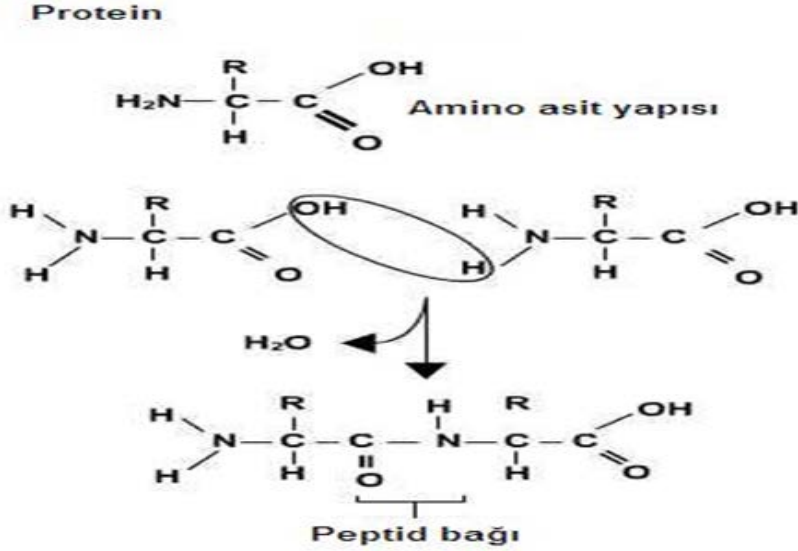
Şekil 1. (A) Myosinin ve (B) aktinin yapısal şekli.

Ağırlıklı olarak kolajen, geri kalan kısmı elastin ve jelatinden oluşan bağ dokusu veya stroma proteinleri, ortalama olarak toplam kas proteininin % 3'ünü oluşturur. Balık derisi, kemikler ve pullardaki kollajen, kas dokuda da, önemli bir yapısal proteindir. Bu üçlü sarmal protein ve kısmen

hidrolize edilen sargılı form olan jelatin, polar olmayan glisin, valin, alanin, prolin ve hidroksiprolin amino asitleri açısından zengindir. Hidrofobik amino asitlerinden prolin, lipid peroksidasyonunun ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE)' in önlenmesinde önemli rol oynar.

1.2. Balık protein hidrolizat üretimi

Hidroliz, su kullanılarak iki molekül arasındaki bağlantının koptuğu bir işlemdir. Proteinler, hidrolize edilirken daha küçük peptitlere ve serbest amino asitlere hidroliz olurlar. Şekil 2'de bir dipeptidin iki serbest amino aside hidrolizi gösterilmiştir (Anonim, 2009). Hidroliz işlemine hammaddenin kompozisyonu, enzim tipi, su, endojen enzimlerin inaktivasyonu, pH, sıcaklık ve zamanın etkili olabileceği öne sürülmektedir (He ve ark., 2013).



Şekil 2. Bir dipeptidin iki serbest aminoasite hidrolizi

Hidroliz hem kimyasal hem de enzimatik olarak gerçekleştirilebilir. Kimyasal hidroliz için asit veya baz kullanırken, enzimatik hidroliz enzimler tarafından katalizlenir. Kimyasal hidroliz, yüksek protein geri kazanımı, hızlı işleme ve düşük maliyet nedeniyle her ne kadar popüler olsa da, bahsedilen fizikokimyasal ve biyoaktif işlevselliklerinde zayıflığa neden olduğu için hidrolizat kalitesini kontrol etmek oldukça zordur. Bu dezavantajlar, kimyasal yöntemle elde edilen protein hidrolizatlarının yiyecek, içecek ve ilaç sektöründe kullanımını önemli derecede sınırlandırmaktadır. Günümüzde kimyasal yöntemle elde edilen hidrolizatlar, sadece gübre ya da laktik asit bakterilerinin gelişimi için azot kaynağı gibi düşük değerli ürünler için kullanılmaktadırlar. Öte yandan, enzimatik hidroliz ile karşılaştırıldığında süreci kontrol etmek genellikle zordur ve ayrıca aşırı pH, basınç ve sıcaklık kullanıldığı için besinsel kalite azalmakta ve tutarsız fonksiyonel özelliklere sebep olabilmektedir (Slizyte, 2004). Diğer dezavantajları ise; sindirimin ardından nötralizasyon için aşırı miktarda NaCl kullanımı, esansiyel aminoasit triptofanın tahribatı ve lezzet arttırıcılar olarak hidrolizatların kısıtlı kullanımına sebep olması sayılabilir (Hordur ve ark., 2000). Asit hidrolizi alkaliden daha popülerdir çünkü alkali hidroliz için kullanılan kimyasallar, çoğunlukla hidrolizin besleyici değerine ve fonksiyonel özelliklerine olumsuz etki ederler. Enzimatik yöntemde ise, daha düşük sıcaklık, basınç ve 5-8 arası bir pH aralığı kullanıldığı için bu dezavantajların büyük bir çoğunluğu oluşmaz. Bu durum, son zamanlarda enzimatik yöntemle hidrolizat üretimini daha cazip hale getirmiştir. Yüksek katma değerli protein hidrolizatlarını (PH) üretmek için iyi tanımlanmış protein hidrolizatları enzimatik yöntemle üretilmiştir. Proteinler kolaylıkla hafif sıcaklık ve pH koşullarında deaktive edilir. Üreticinin arzu edilen nihai ürüne dayalı en iyi ürünü elde etmek için farklı kaynaklardan gelen çeşitli enzimlerin kullanımına olanak sağlanmaktadır (Pasupuleti ve Braun, 2010). Balık yan ürünlerinden aynı anda protein ve yağı elde etmek için enzimatik hidroliz kullanmıştır (de Oliveira ve ark., 2017). Enzimatik hidroliz, hidrolizin besinsel kalitesi ve fonksiyonel özellikleri bakımından daha iyi kaliteye sahip olduğu için gelecekte daha popüler olacağı düşünülmektedir. Enzimatik hidroliz ayrıca fizikokimyasal,

fonksiyonel ve / veya duyusal özellikleri iyileştirmek veya değiştirmek içinde kullanılmaktadır. Sağlık için gerekli esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitler FPH'de bol miktarda bulunmaktadır (Idowu ve ark., 2019). Balık protein hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri, protein kaynaklarına, kullanılan proteazlara, hidroliz derecesine, reaksiyonun süre ve sıcaklığına ve tampon pH'sına göre değişirken, duyusal özellikleri ise kullanılan proteolitik enzim türüne ve hidroliz reaksiyon koşullarının etkisine bağlı olarak değişmektedir. Bunlar içerisinde özellikle hidroliz derecesi, bir proteoliz değerlendirme parametresi olarak kullanılmaktadır ve farklı protein hidrolizatlarının karşılaştırılmasında da bir gösterge olarak değerlendirilmektedir. Çizelge 1'de kimyasal ve enzimatik hidrolizin karşılaştırılması verilmiştir. (Sanmartin ve ark., 2009).

Çizelge 1. Balık protein hidrolizati üretiminde kimyasal ve enzimatik hidrolizin karşılaştırılması

Hidrolizat Yöntemi	Avantajları	Dezavantajları
Kimyasal Yöntem (asit ve alkali)	Yüksek protein geri kazanım Kısa işlem süresi Düşük işleme maliyeti	Acılık Kötü fonksiyonel özellikler Yüksek tuz içeriği Metallerin metal aşındırması Tepkimenin zor kontrolü Lysino-alanin gibi toksik maddeler oluşurması İnsanlar vücudu tarafından emilmeyen D-amino asitlerin oluşumu
Enzimatik Yöntem	Daha az acı hidrolizat üretimi Fonksiyonların ve Besleyici değerlerin korunması Son üründe düşük tuz içeriği Homojen hidrolizat üretimi	Yüksek işleme maliyeti Uzun işlem süresi

Benjakul ve Morrisey (1997), pasifik merlanının katı atık proteinleri için optimum hidrolize koşullarını 9.5 pH, 60 derece hidroliz sıcaklığı, 60 dakika hidroliz süresi ve katı atık ve tampon karışımı için (1:1 w/v) 20 Alkalaz kg'lık enzim seviyesi olarak bulmuşlardır. Ayrıca hidrolizatların acılığını azaltabileceği ve alkalazın diğer proteazlara göre daha az acı hidrolizatlar ortaya çıkardığı da tespit edilmiştir

1.3. Enzimatik hidroliz

Enzimler, gıda endüstrisinde istenilen reaksiyonun katalizlenmesinde ve yüksek değerli ürünlere dönüştürülmesinde büyük oranlarda kullanılmaktadır. Proteolitik enzimler, ekonomik olarak en önemli enzim gruplarıdır. Proteolitik enzimlere proteazlar, proteinazlar ve peptitazlar da denir. Özelliklerine bağlı olarak proteolitik enzimler, değişen sekanslar ve uzunluklardaki peptitleri veren iki amino asit arasındaki peptit bağımlı koparırlar. Endopeptitazlar, peptit zincirindeki peptit bağlarını parçalayıp büyük peptitler üretirken, ekzo-peptitazlar zincirin sonundaki peptit bağlarını parçalayarak dipeptitler ve serbest amino asitler oluştururlar. Enzimler, aynı zamanda aktif bağlantı bölgelerine göre de sınıflandırılabilirler. Örneğin sistein endopeptitazları, aktif bölgelerinde oldukça reaktif bir sistein kalıntısı içerirler (Neil ve ark., 2013). Proteinlerin enzimatik hidrolizi, zaten hammadde içinde mevcut olan endojen enzimlerle veya ticari enzimlerin eklenmesiyle gerçekleştirilebilir. Endojen enzimler, proteini çözündürmeye ve hidrolizati arttırmaya yönelik ticari enzimlere göre daha fazla hidroliz işleminde verimli olabilirler. Karaciğer ve bağırsak gibi hammadde fraksiyonları yüksek endojen proteolitik aktiviteye sahiptirler. Endojen ve ticari enzimlerin eşzamanlı kullanımı, daha yüksek hidrolizat verimlerinde tek başına ticari enzim kullanmasından daha yüksek verim alınmasına sebep olabilirler. Bununla birlikte, ticari enzimlerin tek başına kullanılması, elde edilecek ürünün özelliklerini kontrol etmede daha etkili olacaktır. Kontrollü ve yeniden üretilebilir işlemler son derece önemlidir ve bu nedenle hammadde türüne göre endojen enzimler önce etkisiz hale getirilir ve ticari enzimlerin eklenmesi bundan sonra gerçekleştirilir. Proteazlar hayvan, bitki ve mikrobiyolojik kaynaklardan türetilmektedir. Bazı bitki kaynaklarından ekstrakte edilen enzimler arasında papain, bromelain ve keratinaz sayılabilir. Hayvanlardan ekstrakte edilen enzimler arasında ise tripsin, kimotripsin, pepsin ve

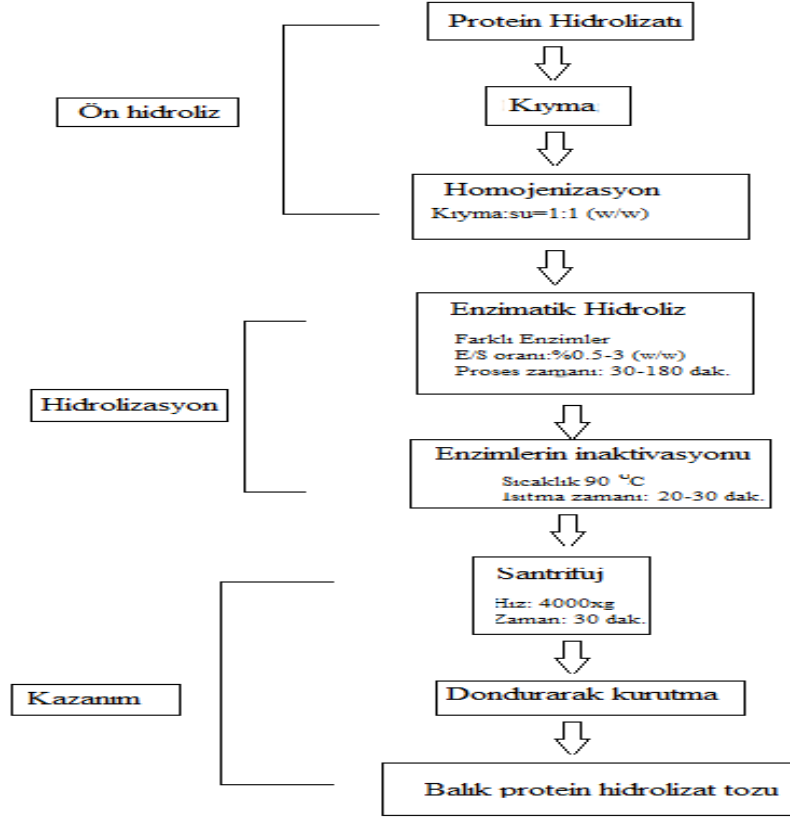
renin sayılabilir. Bitki ve hayvan proteazlarının pazardaki mevcut talebi karşılayamaması nedeniyle, mikrobiyal proteazlara olan talebin artması da söz konusudur (Kristinsson ve Rasco, 2000). Bakteriye proteazlar sıklıkla protein hidrolizatının üretiminde kullanılır. Bunlar esasen nötr veya alkalidir ve *Bacillus* cinsi bakteriler tarafından üretilirler. Nötr proteazlar, 5-8 pH aralığında aktiftir ve düşük sıcaklık toleransına sahiptir. Alkali proteazlar, 7-10 pH aralığında aktiftir ve geniş özgüllüğe sahiptir. Protein hidrolizatları üretmek için çok çeşitli ticari enzimler kullanılmıştır ve bunlar alkalaz (subtilisin), bromelain, kimotripsin, katapsin, Corolaz 7089, Korolaz PP, Denazyme AP, fisain (ficin), Flavourenzim, pankreatin, papain, pepsin, plazmin, Protameks R, Proteinaz K, Proteks 6L, Nötraz, Seabzyme, termolizin, tripsin ve birkaç diğer proteaz bitkilerden, mikroorganizmalardan ve hayvan dokularından üretilmiştir (Tveit, 2014). Alkalaz, deterjan endüstrisi için Novo Nordisk (Bagsvaerd, Danimarka) tarafından geliştirilen *Bacillus licheniformis*'den üretilen bir alkali enzimdir. Bu enzimin, balık protein hidrolizatını hazırlamak için kullanılan en iyi enzimlerden biri olduğu kanıtlanmıştır (Benjakul ve Morrissey, 1997). Shahidi ve ark. (1995), alkalaz tarafından üretilen balık protein hidrolizatının daha iyi fonksiyonel özelliklere, çok iyi bir azot verimi ile yüksek bir protein içeriğine, kasın içerdiği amino asit kompozisyonuna benzer ve nötraz gibi diğer enzimlere kıyasla daha yüksek bir besleyici değere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çizelge 2' de balık protein hidrolizat üretiminde kullanılan ticari enzimlerin özellikleri verilmiştir (Vercruyssen ve ark., 2005).

Çizelge 2. Balık protein hidrolizat üretiminde kullanılan enzimler

Enzimler	Orijini	Özgünlük
Alkalaz	<i>Bacillus licheniformis</i>	Dar, esas olarak hidrofobik aminoasitler için
Nötraz	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Dar, başlıca Leu ve P için
Papain	<i>Papaya</i>	Geniş, endoproteaz
α -Kemotripsin	<i>Bovine pancreas</i>	Treonin, Triptofan, Fenilalanin, Lösin C-terminalinde
Flavourenzim	<i>Aspergillus oryzae</i>	Endoproteidaz ve Ekzoproteaz karışımı

1.3.1. Enzimatik hidroliz üretim basamakları

Enzimatik hidrolizle balık protein hidrolizatı üretiminde üç ana işlem basamağı kullanılmaktadır. Bunlar; ön hidrolizasyon, hidrolizasyon ve geri kazanım aşamasıdır. Şekil 3 de, enzimatik yöntemle balık protein hidrolizatı üretmek için kullanılan akış diyagramı gösterilmektedir (He ve ark., 2013).



Şekil 3. Enzimatik yöntemle balık protein hidrolizatı üretmek için kullanılan akış diyagramı.

1.3.2. Ön hidroliz

Ön hidrolizasyon basamağının amacı, sonraki basamakta olan hidrolizasyon aşaması için homojen hale getirilmiş düşük yağ içeriğine sahip su-kıyma karışımları hazırlamaktır. Bu nedenle, hidroliz aşamasından önce ticari enzimler eklenmeden, kıyılmış hammadde su ile karıştırılır. Bu, enzimlerin substrata kolay erişmesini sağlar. Bu işlem sediman fazındaki çözünür bileşenlerin geri kazanımını sağlayarak hidrolizat verimini artırır ve proteinin artmasına neden olur. Slizyte ve ark., (2005), kullanılan enzim türünden daha ziyade fazla su eklemenin verimi daha iyi etkilediğini belirtmiştir. Bunun olumsuz tarafı, yağ veriminin düşmesi ve emülsiyonun artmasına neden olmalıdır. Bununla birlikte, ilave edilen su sonrasında, kurutma veya konsantre etmek gibi suyun uzaklaştırılması için ek işlemlerin yapılmasını zorunlu hale getirmektedir. Bu şekilde, hidroliz maliyeti hem endojen enzimlerin inaktivasyonu ile hem de su ve ticari enzimlerin eklenmesiyle artar ve bu faaliyetlerin gerekliliği, arzulanan ürünün kalitesiyle bağlantılı olarak belirlenmelidir. Benjakul ve Morrissey (1997) balık atıkları öğütüldükten sonra eşit miktarlarla (ağırlık/ağırlık) su ile karıştırılarak homojen bir su-kıyma bulamacı elde etmişler ve ürüne daha fazla su eklemenin protein geri kazanımını arttırmadığını, ancak suyun azaltılmasının protein hidrolizatlarının su uçurma oranının azaltılmasına sebep olacağını öne sürmüşlerdir.

1.3.3. Hidrolizasyon

Hidrolizasyon için seçilen enzim, ön işlem basamağından sonra elde edilen sulu bulamacı içine homojen bir şekilde karıştırılır. İşleme sıcaklığı ve pH, seçilen enzimin en uygun değerlerine göre ayarlanır. Hidroliz, yaklaşık 30 dakika süre ile enzimleri 90 °C'de inaktif ederek son bulur.

Pepsin gibi pH değeri asidik olan enzimler düşük pH da mikrobiyal büyümeyi engelleyebilir. Ancak asidik pH atmosferi aşırı hidrolizasyona sebep olduğu için proteinin geri kazanımının düşük olmasına, triptofan amino asitinin yıkımına, zayıf fonksiyonel özelliklere ve besinsel kalitenin düşük olmasına yol açarlar (Kristinsson ve Rasco, 2000). Bu nedenle, optimum nötr seviyeye yakın pH

değerine reaksiyona sahip enzimler olan alkalaz, nötraz ve flavourenzim günümüzde daha kapsamlı olarak kullanılmaktadır. Hayvansal veya bitkisel kökenli enzimlere kıyasla, mikrobiyal enzimler daha avantajlıdır. Teknik ve ekonomik açıdan bakıldığında, mikrobiyal enzimler örneğin alkalazın, balık proteinlerinden hidrolizat üretiminde alkali pH'da çalışan en verimli enzim olduğu bildirilmiştir. Enzimler ve protein hidrolizatlarının fonksiyonları arasındaki etkileşimin ayrıca balık türlerine göre değiştiği saptanmıştır (Herpvei ve ark., 2011).

1.4. Hidroliz derecesi (%HD) tespiti

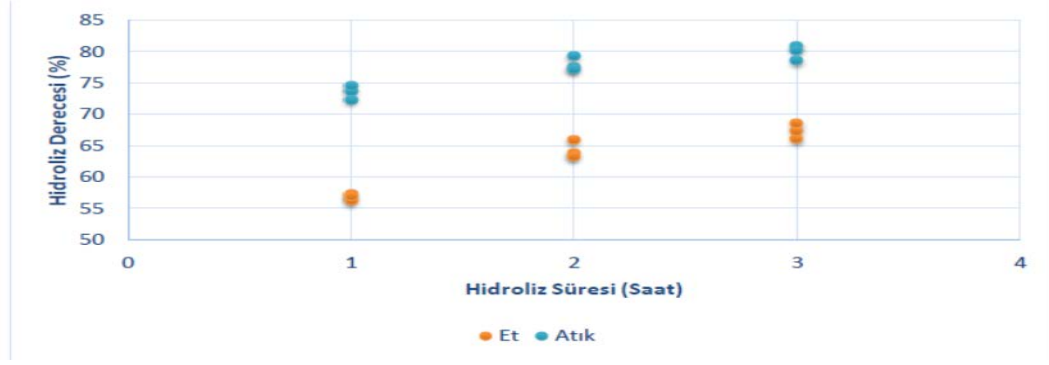
HD (%), peptit bağlarının proteinden ayrıştığını gösteren bir indikatör olarak değerlendirilir (Benjakul ve Morrissey, 1997). Hidroliz işleminin etkinliğini gösteren hidroliz derecesi (HD), peptit bağlarının parçalanma yüzdesi olarak tanımlanmıştır. Şimdiye kadar hidrolizasyonun en etkili göstergesi HD (%) olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara göre, protein geri kazanımı için parçalanmış peptit bağlarının daha yüksek olması, HD (%)'nin yükselmesine neden olduğu saptanmıştır. Daha küçük molekül ağırlığına sahip proteinlerin suda daha fazla çözünürlüğü, böylece hidrolizatın protein geri kazanımının artarak fonksiyonel özelliklerini daha kullanılır hale getirdiği bildirilmiştir. Kısaca yapılan çalışmalar, hidrolizatların fonksiyonel özellikleri ile HD (%) arasında bir korelasyon oluşturduğunu göstermiştir (Shahidi ve ark., 1995). Hinsui ve ark. (2016), Skipjack tuna içorganlarının HD' sini (% 61.73) Yellowfin tuna'nın içorganlarından elde edilen hidrolizatın HD' sinden (% 52.98) yüksek tespit etmişlerdir. Baharuddin ve ark. (2016), alkalaz enzimi ile yapılan yılan balığı protein hidrolizatının hidroliz derecesi (HD %) sonuçlarını hidroliz sürelerine bağlı olarak 120 dakikada % 36, 180 dakikada % 48, 300 dakikada % 69 HD değerlerini tespit etmişlerdir. Ovissipour ve ark. (2012), alkalaz, protameks, nötraz, flavourenzim ve tripsin 5 farklı enzim kullanarak Pers mersin balığı için elde edilen en yüksek HD (%) alkalaz hidrolizatlarında ve en düşük ise tripsin hidrolizatlarında tespit edilmiştir.

Yoon ve ark. (2015), *Onchorhynchus keta* ve *Onchorhynchus gorbuscha* karaciğer ekstraktını, piyasada bulunan dört farklı ticari enzimi kullanarak 1 saat hidroliz etmişlerdir. Protameks / alkalaz kompleksiyle elde edilen HD (%)'ler *O. keta* ve *O. gorbuscha* için sırasıyla % 21.7 ve % 23.4 olarak bulunmuştur. HD değerleri, diğer proteolitik enzimler için % 20 'den daha düşük elde edilmiştir. Enzimler olmadan, HD (%) değerleri % 8.9-10.5 aralığında bulunmuştur. Enzim tipi ve hidroliz koşulları son ürün verimi üzerinde belirgin etkilere sahiptir. Elde edilen çözünür proteinin en yüksek geri kazanımları, alkalaz kullanılarak 50 °C'de hidroliz ile pH 7.0' de elde edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Onchorhynchus keta* ve *Onchorhynchus gorbuscha*'dan elde edilen protein hidrolizatlarının (%HD)

	Kontrol	Flavourenzim	Protameks	Nötraz	Alkalaz	Protameks+Alkalaz
<i>O.keta</i>	10.5	13.2	14.4	15.8	14.8	21.7
<i>O.gorbuscha</i>	8.9	15.7	17.1	17.5	18.5	23.4

Baharuddin ve ark. (2016), yılanbalığı protein hidrolizatının (EPH) farklı hidroliz derecesinin (HD) etkisini araştırmışlardır. Hidroliz için, *Bacillus licheniformis* suşundan elde edilen bakteriyel bir endoproteinaz olan alkalaz kullanılmıştır (2.4 Au / g ve yoğunluk 1.18 g / ml). EPH'nin alkalaz ile hidrolizi sırasıyla 120, 180 ve 300 dakika hidroliz zamanı için % 36, % 48 ve % 69 hidroliz derecesine neden olduğu bulunmuştur. Koç (2016), hamsi (*Engraulis encrasicolus*) eti ve işleme atıklarını Alkalaz enzimi kullanarak üç farklı sürede (60, 120 ve 180 dakika) protein hidrolizine tabi tutmuş; elde edilen hidrolizatların besleyici, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerini incelemiştir. Hamsi eti hidroliz dereceleri; 60, 120 ve 180 dakikalık hidroliz sürelerine göre sırasıyla % 56,7±0.3, % 64,3±0.8, % 67,3±0.7 olarak tespit edilirken, atık örneklerinde bu değerler % 73,5±0.7, % 78.0±0.7 ve % 79.9±0.7 şeklinde ve daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacı, hidroliz derecesi özelliği üzerine materyal tipi ve hidroliz süreleri arasında önemli derecede (p<0.05) interaksiyon olduğunu tespit etmiştir (Şekil 4).

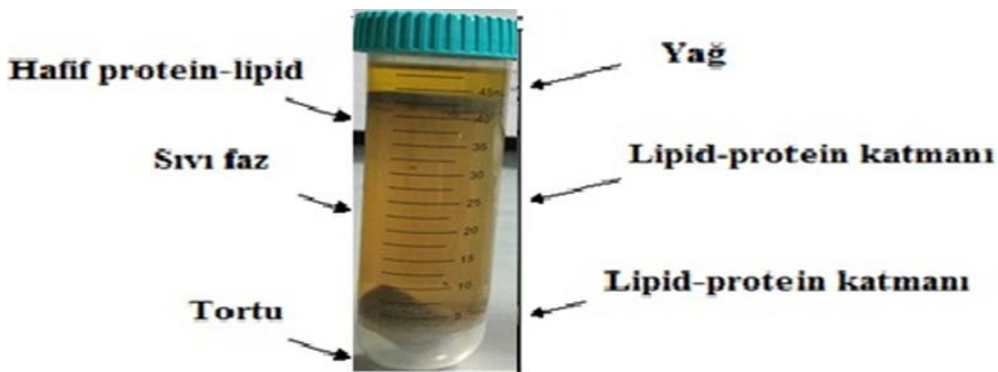


Şekil 4. Hidrolizatların hidroliz süreleri bazında hidroliz dereceleri (%).

Korkmaz (2018), farklı enzimlerle 1,4.5 ve 8 saat hidrolize olan alabalık, hamsi ve mezgit atıklarından elde edilen protein hidrolizatlarının hidroliz dereceleri (% HD) benzer şekilde bu çalışmada da, balık atığı ve enzim türüne göre hidroliz derecesinin % 50.92 ile % 74.30 arasında değiştiği belirlenmiştir. Gruplar içinde en yüksek (HD%) % 74.30 ile alabalık atığının protameks ile hidrolizatından elde edilirken ($p < 0.05$), en düşük (HD%) % 50.92 ile mezgit atığının flavourenzim ile hidrolizinden elde edilmiştir. Hamsi atığı hidrolizatında ise en yüksek (HD%) % 68.23 ile flavourenzim ile elde edilmiştir.

1.5. Protein geri kazanımı

Protein geri kazanımı, hidroliz sonrası protein fazında bulunan proteinler ile hammadde de çözünür halde bulunan toplam proteinlerin yüzdesini gösterir. Hidrolizasyonun üretim basamağının son aşamasında, protein hidrolizatları toz haline getirilir. Balık protein hidrolizatlarının sıvı formları yüksek su içeriğine sahip olduğundan bakterilerin kolayca çoğalmasına olanak sağlarlar ve bu nedenle çabuk bozulabilirler. Balık protein hidrolizatlarının toz hali, taşınması daha hafif ve kolay olması açısından sıvı formdan daha uzun süre saklanabilirler. Geri kazanım için sıvı hidrolizat solüsyonu 20 dakika boyunca 4000 g'de santrifüj edilerek dört faza ayrılır: üstte yağ tabakası, hemen altında hafif protein lipit tabakası ortasında hidrolizat solüsyonu ve altta bir yarı katı katman bulunmaktadır (He ve ark. 2003). Balık atıklarından enzimatik hidroliz işlemi sonucunda yem hammaddesi, gıda katkısı ve takviyesi, sıvı organik gübre, balık yağı ve hidroksiapatit gibi katma değeri yüksek ürünler elde edilebilir. Şekil 5' de sıvı protein hidrolizatı elde edildiğinde ortaya çıkan fazlar gösterilmiştir (Korkmaz, 2018).



Şekil 5. Sıvı protein hidrolizat üretiminde ortaya çıkan fazlar (Korkmaz, 2018).

Shahidi ve ark. (1995), alkalaz, nötraz ve papain kullanılarak kapelin (*Mallotus villosus*)' den protein hidrolizatının ekstraksiyonu üzerine araştırma yapmışlardır. Ekstraksiyon solüsyonu ayrıca otolitik hidrolize tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar, otolitik hidroliz verimi ile karşılaştırıldığında ticari enzimlerle elde edilen protein geri kazanımlarının % 22.9, % 51.6, % 70'e ulaştığını ortaya koymuştur. Alkalaz hidrolizi, diğer enzimlere kıyasla en yüksek protein geri kazanımını göstermiştir.

Protein geri kazanımı, hidroliz sonrası protein fazında bulunan proteinler ile hammaddede çözünür halde bulunan toplam proteinlerin yüzdesini gösterir. Ovissipour ve ark. (2009) tarafından, Pers mersin balığı için 5 farklı enzim (alkalaz, protameks, nötraz, flavourenzim ve tripsin) kullanılarak yapılan hidroliz çalışmasında, alkalaz ile hidroliz edilen balık proteininin 18 saat sonra en yüksek protein geri kazanımına (% 83.64) sahip olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, Pers mersin balığı için alkalaz enzimini kullanarak protein verimini belirlemede zaman ve sıcaklığın önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Meldstad (2015), Atlantik morina (*Gadus morhua*) kafasından elde edilen protein hidrolizatı ile ilgili çalışmasında, en yüksek protein içeriğinin % 88.4 ile taze morinadan üretilen hidrolizatlatlarda (FPH) elde edildiği, en düşük protein kazanımının ise % 67.7 ile dışarıda çözdürülmüş örneklerde olduğu görülmüştür. Korkmaz (2018), Alkali proteaz, protameks ve flavourenzim kullanılarak alabalık, mezgit ve hamsi atığı hidrolizatlarının protein geri kazanımları (%) en yüksek protein geri kazanımı mezgit ve hamsi atığının protameks ile ve mezgit atığının alkali proteaz ile hidrolizatından elde edilirken ($p < 0.05$), en düşük protein geri kazanımı % 73.54 ile mezgit atığının flavourenzim ile hidrolizinden elde edilmiştir ($p < 0.05$). Alabalık atığında en yüksek protein geri kazanımı % 89.03 ile alkali proteaz ile tespit edilirken ($p < 0.05$), bunu protameks ve flavourenzim takip etmiştir ($p < 0.05$). Mezgit atığında en yüksek protein geri kazanımı % 95.27 alkali proteaz ve % 95.76 protameks ile saptanırken ($p > 0.05$), en düşük protein geri kazanımı % 73.54 flavourenzim ile elde edilmiştir ($p < 0.05$). Hamsi atığı hidrolizatında ise en yüksek protein geri kazanımı % 95.73 ile protameks ile elde edilmiştir.

Araştırmalarda elde edilen farklı değerlerin balık türlerine, atık kompozisyonuna, enzim türüne, hidroliz yöntemine (sıcaklık, süre ve enzim oranı) göre değişebileceği görülmektedir.

2. Sonuç ve Öneriler

Atığın kaynağında önlenmesinin yanı sıra geri dönüşümün teşvik edilmesi, atığın kaynak olarak kullanımı ve ek doğal kaynakların çıkarılması gerekmektedir. Su ürünleri atıkları kirlilik unsuru olmaktan ziyade yüksek potansiyele sahip geri dönüşüm kaynaklarıdır. Balık atıklarından protein hidrolizatı üretiminde, atığın besin kompozisyonunun mevsimsel değişiminin gözönüne alınması gerektiği düşünülmektedir. Su ürünlerinden protein hidrolizatının ticari bir ürün haline dönüştürülebilmesi için değerlendirilemeyen ve avcılık yoluyla üretim miktarı yüksek olan türlerin tespitine yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Balık atıklarının enzimatik hidrolizinde alkanin proteaz enziminin fiyat/fayda bakımından fizibilite raporunun araştırılması ve hidrolizat üretiminde önemli bir basamak olan kurutma, ürün kalitesinin korunması amacıyla çoğunlukla liyofilizasyon ile gerçekleştirilmekte, bu durum zaman ve maliyet açısından sıkıntı yaratmaktadır. Bu nedenle kurutma işleminde liyofilizasyonla kalite açısından rekabet edecek, daha hızlı ve düşük maliyetli yöntemlerin araştırılması önerilmektedir.

Kaynakça

- Anonim. (2006). Miyosin ve aktinin yapısal şekli. http://education-portal.com/cimages/multimages/16/actin_filament.PNG- Erişim tarihi: 20.12.2017.
- Anonim. (2009). Proteinler. www.lisebiyoloji.com/protein.html- Erişim tarihi: 20.12.2017.
- Aspmo, S.I., Horn, S.J., & Eijsink, V.G.H. (2005). Growth of *Lactobacillus plantarum* in media containing hydrolysates of fish viscera. *Journal of Applied Microbiology* 99, 1082–1089.
- Baharuddin, N.A., Halim, N.R.A., Sarbon, N. M. 2016. Effect of degree of hydrolysis (DH) on the functional properties and angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of eel (*Monopterus Sp.*) protein hydrolysate. *International Food Research Journal*, in press.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2004). Fish, wales, crustaceans, mollusks. *Food chemistry. Berlin, Heidelberg:Springer*, 619–642.
- Benjakul, S., & Morrissey, M. T. (1997). Protein hydrolysates from Pacific whiting solidwastes. *Journal of Agricultural ve Food Chemistry*, 45(9), 3423–3430.
- Blaber, M. (2001). Skeletal Muscle Myosin and Muscle Contraction <http://www.mikeblaber.org/oldwine/BCH4053/Lecture31/Lecture31.htm>- Erişim tarihi: 20.12.2017.

- Ceylan, Z. (2018). Farklı günlerde soğuk muhafazadan çıkarılan ve farklı sıcaklıklarda pişirilen balıkların bazı kalite parametrelerinin incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(3), 317-324.
- de Oliveira, D.A.S.B., Licodiedoff, S., Furigo, A., Ninow, J.L., Bork, J.A., Podestá, R., Block, J.M., & Waszczynskyj, N. (2017). Enzymatic extraction of oil from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products: a comparison with other extraction methods. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52.
- Diniz, F. M., & Martin, A.M. (1997). Effects of the Extent of Enzymatic Hydrolysis on Functional Properties of Shark Protein Hydrolysate. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 30, 266-272.
- Food and Agriculture Organization. (2018) *The State of Food and Agriculture 2018 Migration, Agriculture and Rural Development*. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Guerard, F., Dufosse, D., De La Broise, D., & Binet, A. (2001). Enzymatic Hydrolysis of Proteins from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Wastes Using Alkalaz. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11, 1051-1059.
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, Applications ve Production of Protein Hydrolysates from Fish Processing Co-Products (FPCP). *Food Research International*, 50, 289-297.
- Herpvei, N. H., Rosma, A., & Wan Nadiyah, W.A. (2011). The Tuna Fishing Industry: A New Outlook on Fish Protein Hydrolysates. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 195-207.
- Hinsui, J., Detkamhaeng, N., & Worawattanamateekul, W. (2016). Production of protein hydrolysate from yellowfin (*Thunnus albacares*) and skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera. *Kasetsart University Fisheries Research Bulletin*, 40(2), 51-67.
- Hoyle, N.T., & Merritt, J.H. (1994). Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59 (1), 76-79.
- Hordur, G., Kristinsson, B., & Rasco, A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical ve functional properties. *Food Science ve Nutrition*, 40(1), 43-81.
- Idowu, AT., Benjakul, S., Sinthusamran, S., Sookchoo, P., & Kishimura, H. (2019) Protein hydrolysate from salmon frames: Production, characteristics and antioxidative activity. *Journal of Food Biochemistry* 43, e12734.
- Koç, S. (2016). *Hamsi (Engraulis encrasicolus) ve işleme atıklarından elde edilen protein hidrolizatlarının besleyici, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Ç. O. M. Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Korkmaz, K. (2018). *Ticari enzimler kullanılarak farklı balık Türü atıklarından hidrolizat üretimi ve Kalitesinin belirlenmesi*, Doktora Tezi, O. D. Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Kristinsson, H.G., & Rasco, B.A. (2000a). Biochemical ve Functional Properties of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Muscle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 657-666.
- Liaset, B., Nortvedt, R., Lied, E., & Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex protease. *Process Biochem.*, 37, 1263-9.
- Meldstad, F. (2015). *Hydrolysis of Marine Cod (Gadus Morhua) Head-Utilization of rest raw material from cod for production of ingredients for human consumption*. Master's thesis, NTNU.
- Neil, D., & Guy, S. (2013). *Handbook of Proteolytic Enzymes*, volume 2. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 3rd edition.
- Ovissipour, M., Abedian, A. M., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H. (2009a). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115, 238-242.
- Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A., Regenstein, J. M., Gildberg, A., & Rasco, B. (2012). Use of hydrolysates from Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 73-79.
- Pasupuleti, V. K., & Braun, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 11-32.
- Raghavan, S., & Kristinsson, H.G. (2008). Antioxidative efficacy of alkali-treated tilapia protein hydrolysates: A comparative study of five enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (4), 1434-1441.

- Sanmartin, E., Arbolea, J. C., Villamiel, M., & Moreno, J. (2009). Recent advances in the recovery and improvement of functional proteins from fish processing by-products: Use of protein glycation as an alternative method. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(4), 332–344.
- Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., & Bechtel, P. J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, 70(6), 401–406.
- Shahidi, F., Han, X.Q., & Synowiecki, J. (1995). Production and Characteristics of Protein Hydrolysates from Capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53, 285-293.
- Simpson, B. K., Nayeri, G., Yaylayan, V., & Ashie, N. A. (1998). Enzymatic hydrolysis of shrimp meat. *Food Chemistry*, 61(1/2), 131–138.
- Slizyte, R. (2004). *Hydrolysis of cod (Gadus morhua) by-products: Influence of raw material composition and process conditions*. PhD thesis, NTNU, Faculty of Natural Sciences and Technology, Department of Biotechnology.
- Slizyte, R., Dauksas, E., Falch, E., Storro, I., & Rustad, T. (2005). Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, 40, 1415–1424.
- Tveit, G. M. (2014). *Enzymatic hydrolysis of chicken rest raw material*. Master's thesis, NTNU, Department of Biotechnology.
- Uçar, Y. (2020). Su ürünlerinde nisin uygulamaları. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30 (3), 639-651.
- Vercruyssen, L., Camp, J. V., & Smagghe, G. (2005). ACE inhibitory peptides derived from enzymatic hydrolysates of animal muscle protein: A review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(21), 8106–8115.
- Viera, G. H. F., Martin, A. M., Sampaio, S. S., Omar, S., & Gonsalves, R. C. F. (1995). Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazilian lobster (*Panulirus* spp.) processing wastes. *Journal of Food Science and Agriculture*, 69, 61–65.
- Yoon, S., Watanabe, E., Ueno, H., & Kishi, M.J. (2015). Potential habitat for chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in the Western Arctic based on a bioenergetics model coupled with a three-dimensional lower trophic ecosystem model. *Prog. Oceanogr.* 131, 146–158.

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ YAYIN İLKELERİ*

1. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 1995 yılında yayın hayatına başlamış bir bilimsel araştırma dergisidir Dergide, tarım bilimleri (Bahçe Bitkileri, Bitki Koruma, Biyosistem Mühendisliği, Gıda Mühendisliği, Peyzaj Mimarlığı, Su Ürünleri Mühendisliği, Tarla Bitkileri, Tarımsal Biyoteknoloji, Tarım Ekonomisi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Zootečni) alanında düzenli olarak Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında yılda dört sayı yayımlanan uluslararası hakemli bir dergidir.
2. Dergimizde Türkçe ve İngilizce yazılmış Araştırma Makalesi, Teknik Not ve Derlemeler yayımlanır.
3. Yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur. On yıldan eski çalışmalar değerlendirilmeye alınmaz.
4. Dergiye yayımlanmak üzere gönderilen bir araştırma makalesi; Başlık, Türkçe ve İngilizce Özet, Giriş, Materyal ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç ve Kaynaklar ana başlıkları altında hazırlanmalıdır. Bulgular ve Tartışma kısmı birlikte de yazılabilir.
5. Araştırma Makalesi 2500-5000, Derleme 4.000-7000 ve Teknik Not 1000-2500 kelime sayısı sınırları içerisinde olmalıdır.
6. Derlemeler bilimsel dergilerde yayımlanmış bilimsel yazıların, çalışmaların veya güncel gelişmelerin belirtilen konuda yoğun çalışmaları bulunan deneyimli yazarlarca (sorumlu yazarın derleme konusu ile ilgili Uluslararası hakemli dergilerde en az 5 özgün makaleye sahip olması şartı aranır) yapılan bir sentezi, yorumu ve durum değerlendirmesi şeklinde olmalıdır. Her sayıda basılan makale sayısının en fazla % 10'u kadar derlemeye yer verilir.
7. Araştırma makalesi olarak dergimize gönderilen çalışmalar lisansüstü tezlerden üretilmiş ise bu durum ilk sayfada dipnot olarak verilmelidir.
8. Dergimiz **Açık Kaynak Yayın Politikası** benimsemektedir.
9. Dergimizde yayımlanacak makalelerin bilimsel etik kuralları içerisinde olması gerekmektedir. Makaleler, uluslararası kabul görmüş bilim etik kurallarına uygun olarak hazırlanmalıdır.
10. Etik Kurul Raporu gerekli hallerde (doğrudan/dolaylı olarak hayvan ile ilişkili olan çalışmalar) raporun bir kopyası metin ile birlikte gönderilmelidir.
11. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisine gönderilen makaleler intihal raporu iThenticate yazılımı aracılığıyla kontrol edilir. Makalenin Benzerlik İndeksi (SI) < % 20; Her bir benzerlik oranı (alıntı yapılan her bir kaynak) ise ≤ % 5 olmalıdır. Benzerlik indeksi belirtilen düzeylerin üzerinde ise ilgili yazar/yazarlara makale iade edilir (Bir makale için en fazla 3 benzerlik taraması yapılır). Bu konuda yeterli düzeltmelerin 10 gün içerisinde yapılmaması halinde makale reddedilir. İntihal, makalenin yayımlanmasından sonra ispatlanırsa, o makale derhal web sitesinden çekilecek ve kaldırılacaktır ve ilgili yazar/yazarlar, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisine beş yıl süre ile makale gönderemeyeceklerdir.
12. Makalede yer alan tüm yazarlar, çalışmalarının yayın haklarını Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi'ne verdiklerine dair Telif Hakları Formu'nu imzalamalıdır. Telif Hakkı Formu yazarlar tarafından gönderilmediği sürece çalışma değerlendirmeye alınmaz.
13. Değerlendirme süreci tamamlanan makaleler, geliş tarihi dikkate alınarak yayımlanır. Makaleler yayına hazır hale geldikleri andan itibaren yayımlanması planlanan ilk sayıya eklenirler; ancak tüm makaleler tamamlandıktan sonra ilgili sayı toplu halde yayımlanır.
14. Mizanpaj çalışması sırasında yazar(lar)a gönderilecek olan kontrol ve düzeltme amaçlı gönderilere (matbaa provası), en geç 15 gün içerisinde cevap verilmelidir. Belirtilen sürede cevap vermeyen yazar(lar)ın makaleleri daha sonraki sayıda değerlendirilmek üzere ötelenir.
15. Basımına karar verilen eserde ekleme ve çıkarma yapılamaz. Bir yazarın aynı sayıda sorumlu yazar olarak bir (1), sorumlu yazar olmadan da bir (1) eseri olmak üzere en fazla iki eseri basılabilir. Yayımlanan eserin tüm sorumluluğu yazar(lar)ına aittir.
16. Basım masrafları olarak eser başına 300 TL ya da 60 \$ alınır.

ESER BAŞVURUSU

Makale Hazırlama

1. Dergimizde yayımlanmak üzere gönderilen eserler dergi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Yazım ilkelerine uygun olmayan çalışmalar hakem değerlendirme sürecine alınmadan yazarlara iade edilir. **YAZIM KURALLARI VE İLGİLİ ŞABLON için "https://dergipark.org.tr/yyutbd/writing-rules"** web adresine gidiniz.
2. Dergimizde yazım dili Türkçe ve/veya İngilizce olup makale metni anlaşılabilir, yalın ve akıcı bir tarzda ilgili alandaki teknik ifadelerle kaleme alınmalıdır. Gereksiz ve çok bilinen bilgilerden ve gereksiz kaynaklardan kaçınılmalıdır ve daha önce yayımlanmış veri, formül ve sonuçlara atıf yapılarak alıntı yapılmalıdır. Zorunlu ya da istisnai haller dışında 15 yıldan eski kaynak kullanılmamalıdır. Kaynak sayısı her 1000 kelime için 6 adetten fazla olmamalıdır.
3. Kaynaklar bölümündeki dergi isim kısaltmaları "**Web of Science Kısaltmaları**" a uygun düzenlenmelidir. Makaleye özgü veya ilgili alanda kullanılan kısaltmalar, ilk geçen yerde parantezde belirtilmelidir. Tüm makalelerde SI (International System of Units) ölçü birimleri ve ondalık kesir olarak nokta kullanılmalıdır (1,25 yerine 1.25 gibi). Binler basamağını ayırmak için boşluk kullanılmalıdır (100000 yerine 100 000).
4. Baskı için, resimlerin kaliteli kopyaları (JPG veya TIFF formatında 300 dpi) ek dosya olarak gönderilmelidir.
5. Dergi yazım kuralları aynı zamanda baskı formatıdır. Bu nedenle yazım kurallarının yazarlarca dikkatle uygulanması gerekmektedir. Yazım kurallarına uygun olmayan makaleler, yazarlara geri gönderilecektir.

**PUBLICATION GUIDLINES OF
YUZUNCU YIL UNIVERSITY JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES***

1. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences* is a scientific research journal that has been published in 1995. Journal of Agricultural Sciences (Agricultural Biotechnology, Agricultural Economics, Animal Science, Biosystems Engineering, Field Crops, Fisheries Engineering, Food Engineering, Horticulture, Landscape Architecture, Plant Protection, Soil Science and Plant Nutrition) is a refereed international journal published four times a year in March, June, September and December.
2. Research articles, technical notes and reviews written in Turkish and English are published in our journal.
3. Articles submitted for publication must not be published elsewhere or sent to any journal for publication. Older studies more than ten years are not accepted to evaluate.
4. A research paper submitted to the journal for publication have following sections; Turkish and English Abstract, Introduction, Material and Method, Results, Discussion and Conclusion and References. Results and Discussions can either be combined into one section.
5. Research Article 2500-5000 words, Reviews 4.000-7000 words and Technical Note must be within the limits of 1000-2500 words.
6. Reviews should include a synthesis, interpretation, and evaluation of previous scientific studies and current developments by experienced authors in the field of research area (the corresponding author of the review should have at least 5 research articles in international refereed journals). Reviews published up to 10% of the number of articles published in each issue.
7. If the research paper is summarized from graduate theses, this should be given as a footnote on the first page.
8. Our journal adopts the **Open Source Publication Policy**.
9. The articles published in our journal must comply with the scientific ethics rules. Manuscripts should be prepared in accordance with internationally accepted code of ethics.
10. A copy of the report should be submitted with the manuscript in the studies where the Ethics Committee Report is required (studies related directly / indirectly to the animal).
11. The articles submitted to *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences* are controlled through the iThenticate software. Similarity Index (SI) of the article should be <20%; Each similarity ratio should be $\leq 5\%$. If the similarity index is above the acceptable limits, the article will be returned to the author(s) (no more than 3 plagiarism scans are performed for an article). If revisions are not made within 10 days, the article will be rejected. If the plagiarism is proved after the publication of the article, that article will be withdrawn and removed from the website immediately and the author(s) will not be able to submit a paper for a period of five years to the *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*.
12. All authors should sign the Copyright Form for the publication rights of their article to the *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*. The article will not be taken into consideration unless the Copyright Form is submitted by the authors
13. The articles whose evaluation process is completed are published considering the date of submission. The articles are added to the first issue scheduled to be published as soon as they are ready for publication. The volume is published, after all articles will be published in the same volume are completed.
14. Response to control and correction postings to be sent to the author (s) during the page-layout the study should be replied within 15 days at the latest. The articles of the author (s) who are not responding within the specified period of time shall be forwarded for further volumes.
15. No changes are allowed in the study that is decided to be published. An author can publish a maximum of two study as a corresponding author, one without a corresponding author. The responsibility of the published study belongs to the author (s).
16. The publication fee is 300 TRY or 60 \$ per article.

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript preparation

1. Articles submitted for publication in our journal should be prepared according to the journal writing rules. The study which are not in accordance with the writing rules will be returned to the authors and will not be accepted for peer-review. **WRITING RULES AND TEMPLATE** are at this web adress "<https://dergipark.org.tr/yvutbd/writing-rules>".
2. In our journal, the writing language is Turkish and / or English. A good quality of scientific writing is required. The research must be understandable by a general scientific readership and by specialists. The research problem is identified, existing knowledge relevant to the problem is analyzed, the hypothesis is clear. Sentences are simple, short and direct, the style is concise and precise. Unnecessary and well-known info and unnecessary references should be avoided. Previously published data should be cited with reference to the formula and results. No reference of over 15 years should be used except for compulsory or exceptional cases. **The number of references should not be more than 6 per 1000 words.**
3. Journal name abbreviations in the reference section should be arranged in accordance with "**Web of Science Abbreviations**". Abbreviations used in the article should be written in full and provide in the parenthesis in the first mention. In all articles, the SI (International System of Units) units of measure and the decimal point must be used as a decimal fraction (1.25 instead of 1.25). Blank should be used to separate the thousands (100 000 instead of 100000)
4. For printing, quality copies of pictures (300 dpi in JPG or TIFF format) should be sent as an additional file.
5. Journal writing rules are also print format. Therefore, the rules of writing should be prepared carefully by the authors. Articles that do not comply with the writing rules will be sent back to the authors.

MAKALE GÖNDERİMİ ve TELİF HAKKI DEVİR SÖZLEŞMESİ

Yazarlar tarafından Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisine iletilen “*Makale Gönderimi ve Telif Hakkı Devir Sözleşmesi*”, bu çalışma basıma kabul edildikten sonra yazar(lar)ın her türlü yayınlama yetkisinin YYÜ Tarım Bilimleri Dergisine devredildiğini açıkça ve yazılı olarak ifade etmektedir. Dolayısı ile sözleşme niteliğindeki aşağıdaki form, dergiye gönderilen her makale için doldurulmalı ve tüm yazarlar tarafından imzalanmalıdır.

Makale Başlığı:

olan makale, “Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri” dergisinde basılmak üzere gönderilmiştir.

Bu makalenin YYÜ, Tarım Bilimleri dergisi “Yazım Kuralları”na uygun olarak hazırlandığını onaylarız. Bu makale orijinal olduğunu, son haliyle basılı ve elektronik olarak daha önce yayınlanmadığını ve başka bir dergide yayınlanmak üzere değerlendirme aşamasında olmadığını taahhüt ederiz. Bildiğim(iz) kadarıyla bu makale herhangi bir mevcut telif hakkı, diğer üçüncü taraf hak, iftira niteliğinde, müstahcen veya başka yasadışı nitelikte herhangi bir materyal içermez; bu makale başkalarının haklarını ihlal etmez.

Makale “Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri ” dergisinde basıma kabul edildikten sonra, yazar(lar) olarak; makale ile ilgili tüm hakları, “telif hakkı devir” yasaları uyarınca, YYÜ-Ziraat Fakültesine devretmeyi kabul ediyoruz. Ancak, bu makalenin YYÜ, Tarım Bilimleri dergisi tarafından yayımlandığına dair referans verilmesi şartıyla aşağıdaki haklarımız saklıdır:

- Basılmış makalenin tamamı veya bir bölümü yazar(lar) tarafından çoğaltılarak ders materyali olarak kullanılabilir.
- Basılmış makalenin tamamı veya bir bölümü yazar(lar) tarafından yazılan bir derleme veya ders kitabında yeniden kullanılabilir.
- Basılmış makalenin tamamı veya bir bölümü çalıştığımız kurumun yayınladığı yayınlarda yeniden kullanılabilir.

Ancak, yayınlanan makalenin doğrudan kullanımı söz konusu olduğunda, YYÜ-Ziraat Fakültesi’ne bildirim yapılmalıdır.

Bu koşullar altında yapılacak kopyaların da, bu telif hakkı devir koşullarını taşıyacağını ve asıl telif hakkı sahibinin YYÜ-Ziraat Fakültesi olduğunu kabul ediyoruz. Diğer telif hakkı sahip(ler)inde olan; her türlü yöntem, şekil, çizelge ve/veya fotoğraflar ile benzeri materyalin bu makalede kullanılabilmesi için yazılı izin alındığını, YYÜ-Ziraat Fakültesine tarafından talep edilirse bunların belgeleneceğini ve bu materyal için YYÜ-Ziraat Fakültesinden ücret istenmeyeceğini yazar(lar) olarak taahhüt ederiz.

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

Adı Soyadı :

İmza Tarih:

(Bu form, makaledeki tüm yazarlar tarafından imzalanmış olarak makale ile birlikte “Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri” dergisine gönderilmelidir)

LÜTFEN İMZALANMIŞ SÖZLEŞMEYİ AŞAĞIDAKİ ADRESE GÖNDERİNİZ: (Faks veya E-posta gönderilebilir)

Tarım Bilimleri Dergisi

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Telefon: (432) 225 13 92

Faks: (432) 225 11 04

E-posta: zyaykom@yyu.edu.tr, yyujagrsci@gmail.com

65080, Kampus, VAN

MANUSCRIPT SUBMISSION AND COPYRIGHT ASSIGNMENT FORM

“*Manuscript Submission and Copyright Release Agreement*” sent to Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences from author(s) clearly states in writing to enable the journal to ensure that it has the exclusive distribution rights of the authors’ work after the article is accepted for publication. Therefore, the following agreement form must be filled and signed by author(s) for each article submission made to the journal.

The article title:.....

is herewith submitted for publication to “*Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*”.

We affirm that the article has been prepared in accordance with Author Instructions of Journal of Agricultural Sciences, YYU. We hereby also warrant and undertake that the article is original, and has not been published before, and it is not under consideration for publication in its final form in printed and electronic form. This Article contains no violation of any existing copyright or other third party right or any material of an obscene, libelous or otherwise unlawful nature and that to the best of my knowledge; this article does not infringe the rights of others.

When the article is accepted for publication, we as the authors, hereby agree to transfer all rights under existing copyright laws to the Journal-Yuzuncu Yil University, Turkey. Provided that the reference be given to Journal of Agricultural Sciences, the following rights reserved:

- a. The right to make further copies of all or part of the published article for our use in classroom teaching.
- b. The right to reuse all or part of this material in a compilation of our own works or in a textbook of which we are the author.
- c. The right to reuse all or a portion of the published article in publications of the institution.

For clarity, we shall inform the Journal of Agricultural Sciences, YYU-Turkey if we directly use of the published article.

We hereby agree that copies made under these circumstances will continue to carry the copyright notice that appeared in the original published work. We certify that we have obtained written permission for the use of text, tables, figures and/or photographs etc. from any copyright source(s), and we also agree to supply such written permission(s) to inform YYU-College of Agriculture, Turkey upon request. We as the authors, hereby affirm that we will not ask for monetary return from YYU-College of Agriculture, Turkey for the use of this material.

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

Name :
Signed Date :

(This form must be signed by all authors and returned to the Editor Office of Yuzuncu Yil University, Journal of Agricultural Sciences)

PLEASE RETURN A SIGNED COPY OF THIS FORM TO:

(a fax or an email is acceptable, but the original must follow within 7 days)

Journal of Agriculture Sciences
Yuzuncu Yil Univeristy
Faculty of Agriculture
Phone: +90 432 225 13 92
Fax: +90 432 225 11 04
Email: yyujagrsci@gmail.com
65080, Campus, VAN, TURKEY

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ, TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ
(YUZUNCU YIL UNIVERSITY, JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES)
İÇİNDEKİLER
(CONTENTS)

Araştırma Makaleleri/ Articles

- **Akdeniz Bölgesinde Çeltik Yanıklık Hastalığı (*Pyricularia oryzae*)'nın Yönetiminde Farklı İlaçlama ve Ekim Yöntemlerinin Etkinliğinin Belirlenmesi** 259-267
- Determination of the Efficacy of Different Spraying and Planting Methods on Management of Rice Blast Disease (*Pyricularia oryzae*) in the Mediterranean Region
Efkan AKÇALI, Şener KURT
- **Cost Efficiency Status of Rice Farmers Participating in IFAD/VCD Programme in Niger State of Nigeria** 268-276
- Nijerya'nın Nijer Devletinde IFAD / VCD Programına Katılan Pirinç Çiftçilerinin Maliyet Verimliliği Durumu
Mohammed Sanusi SADIQ, Invinder Paul SINGH, Muhammad Makarfi AHMAD
- **Antimicrobial and Antioxidant effect of *Ficaria verna* Huds.** 277-281
- *Ficaria verna* Huds.'nin Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkisi
Şule İNCİ, Ayşe EREN, Sevdâ KIRBAĞ, Ahmet İsmail ÖZKAN
- **Bazı Biber (*Capsicum annuum* L.) Genotiplerinin Anter Kültürü Performanslarının Belirlenmesi** 282-293
- Determination of Anther Culture Performance of Some Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes
Didem ATASOY, Gökhan BAKTEMUR, Hatıra TAŞKIN
- **Effect of Cutting Time and IBA Application on the Rooting of Goji Berry Cuttings** 294-304
- Çelik Alma Zamanı ve IBA Uygulamalarının Goji Berry Çeliklerinde Köklenme Üzerine Etkileri
Hüseyin ÇELİK, Figen ÇETİN
- **Ege Bölgesi Bağ Alanlarından Elde Edilen *Phomopsis viticola* İzolatlarının Morfolojik Moleküler ve Patojenik Karakterizasyonu** 305-317
- Morphologic, Molecular and Pathogenic Characterization of *Phomopsis viticola* isolates Collected from the Vineyards of the Aegean Region in Turkey
Sahra HOSSEINALIZADEH, Ömer ERİNCİK, Serap AÇIKGÖZ
- **Determination of the Stress Responses and Mineral Compositions of Some Common Wheats (*Triticum aestivum* L.) under Salt Treatment** 318-329
- Bazı Ekmeklik Buğdayların Tuz Uygulamasına Tepkileri ve Besin Elementi İçeriklerinin Belirlenmesi
Hasan CAN, Mehmet HAMURCU, Sait GEZGIN, Erdogan Esref HAKKI
- **Kuşburnunda (*Rosa canina* L.) Tohum Çıkışı ve Çöğür Gelişimi Üzerine Farklı Katlama Ortamlarının ve Sıcaklık Uygulamalarının Etkisi** 330-336
- The Effect of Different Stratification Media and Temperature Applications on Seed Germination and Seedling Growing in Rosehip (*Rosa canina* L.)
Selma BOYACI, Bahadır ALTUN, Ahmet KAZANKAYA
- **Evaluation of Nutritional Status In Term of Selenium and Micro Nutrients of Maize Cultivation Lands in Sanliurfa Province** 337-347
- Şanlıurfa İlinde Mısır Tarımı Yapılan Alanların Selenyum ve Mikro Besin Elementleri Bakımından Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi
Aise DELIBORAN, Abdullah Suat NACAR
- **Phytochemical Properties of Some Mulberry Genotypes Grown in Malatya Province** 348-355
- Malatya İlinde Yetişen Bazı Dut Genotiplerinin Fitokimyasal Özellikleri
Rukiye YAMAN
- **Differences in AChE and BChE Enzyme Activation Levels in Liver and Brain Tissues in Rainbow Trouts Exposed to Different Bacterial Diseases** 356-364
- Farklı Bakteriye Hastalıklara Maruz Kalmış Gökkuşluğu Alabalıklarında Karaciğer ve Beyin Dokularında AChE ve BChE Enzim Aktivite Seviyesi
Farklılıkları
Şükrü Önalın, Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN
- **Characterization of Iranian Olive Oils based on Biophenolic Minor Polar Compounds and their Contribution to Organoleptic Properties** 365-376
- İran Zeytinyağlarının Biyofenolik Minör Polar Bileşiklerine Göre Karakterizasyonu ve Organoleptik Özelliklere Katkıları
Forough SHAVAKHI, Anosheh RAHMANI, Parviz MORADI
- **Changes in Qualitative and Quantitative Traits of Anatolian Chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) Fruit Due to Balanced Macro Fertilization** 377-386
- Dengeli Makro Gübrelemeye Bağlı Olarak Anadolu Kestanesi (*Castanea sativa* Mill.) Meyvelerinin Kalitatif ve Kantitatif Özelliklerinde Değişimler
Serdar TOPRAK, Özgür ATEŞ, Gülser YALÇIN, Kadriye TAŞPINAR
- **Ankara, Eskişehir ve Konya İlleri Marul Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalık Etmenlerinin Tespiti** 387-395
- Determination of Virus Diseases in Lettuce Production Areas of Ankara, Eskişehir, and Konya Provinces of Turkey
Birol AKBAŞ, Ali Ferhan MORCA, Sevgi COŞKAN
- **Effects of Different Main Soil Tillage Methods on The Vertical Distribution of Sunflower Seeds in The Soil Layer and Plant Development** 396-407
- Farklı Temel Toprak İşleme Yöntemlerinin Ayçiçeği Tohumlarının Toprak Katmanındaki Dikey Dağılımına ve Bitki Gelişimine Etkisi
Peter YANKOV, Miglena DRUMBEVA
- **Türkiye'de Tarımsal Sabit Sermaye Yatırımları ve Tarımsal Büyüme Arasındaki İlişki** 408-417
- The Relationship Between Agricultural Fixed Capital Investment and Agricultural Growth in Turkey
Nazife Özge BEŞER, Esra KADANALI
- **CaCl₂ Solution Sprayed on Leaves Changes the Nutrition and Qualitative Properties of Pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar)** 418-424
- Yapraklara Püskürtülen CaCl₂ Çözeltisi Nar (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar)'ın Beslenme ve Niteliksel Özelliklerini Değiştirir
Serdar TOPRAK
- **Türkiye'de Yetişen Bazı Apiaceae Türlerinin Uçucu Yağlarının Kök Lezyon Nematodlarına Karşı Nematoidal Aktiviteleri** 425-433
- Nematicidal Activity of Essential Oils from Apiaceae Family Plants of Turkey Against Root Lesion Nematodes
Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR, Bekir TOSUN, Arif ŞANLI, Tahsin KARADOĞAN
- **Bazı Yonca Çeşitlerinde (*Medicago sativa* L.) Biçim Zamanının Ot Verimi ve Kalitesi Üzerine Etkilerinin Saptanması** 434-452
- Determination of The Effects of Cutting Time on Forage Yield and Quality in Some Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties
Gürsel GÖKKAYA, Adnan ORAK
- **Ekmeklik Buğdayda Optik Sensör ile Azotlu Gübre Tavsiyesi** 453-465
- Nitrogen Fertilizer Recommendation with Optical Sensor for Bread Wheat Varieties
Erdoğan SAVAŞLI, Oğuz ÖNDER, Ramis DAYIOĞLU, Didem ÖZEN, Yaşar KARADUMAN, Suat ÖZDEMİR, Özgür ATEŞ, Melih ÖZSAYIN
- **Molecular Evaluations and Genetic Divergence of *Erynnis tages* and *Erynnis marloyi* (Lepidoptera, Hesperidae) Based on mtCOI Gene with Turkey Populations** 466-471
- Türkiye Populasyonlarıyla mtCOI Genine Dayalı *Erynnis tages* ve *Erynnis marloyi*'nin (Lepidoptera, Hesperidae) Moleküler Değerlendirmeleri ve Genetik Divergensisi
Sibel KIZILDAĞ
- **Effects of the Delta-Songhai Centre Agricultural Programmes on Beneficiaries in Delta State, Nigeria: Youth Economic Empowerment Approaches** 472-486
- Delta-Songhai Merkezi Tarım Programlarının Nijerya, Delta Eyaletindeki Faydalancılar Üzerindeki Etkileri: Gençleri Ekonomik Olarak Güçlendirilme Yaklaşımları
Oghenero Joseph OVHARHE, Peter Otunaruke EMAZIYE, Elizabeth YARHERE, Onome ENEGESELE

- **Evaluation of the Fungicide Resistance of Gray Mold (*Botrytis cinerea*) in Tomatoes to Boscalid and Pyraclostrobin in Greenhouse Areas of Turkey** 487-493
- Türkiye’de Domates Seralarında Kuşuni K f (*Botrytis cinerea*) Hastalığının Boscalid ve Pyraclostrobin’e Karşı Fungisit Dayanıklılığının Değerlendirilmesi
Esra G L, Zeynep KARATAŞ, Aziz KARAKAYA
- **Bilgi ve İletişim Teknolojilerinin Kırsal Kalkınmadaki Rolünün A’WOT Analizi ile Değerlendirilmesi** 494-501
- Evaluation of The Role of Information and Communication Technologies in Rural Development Using A’WOT Analysis
Rukiye Gizem ÖZTAŞ KARLI
- Derleme/Review**
- **Enzimatik Hidroliz Yöntemi Kullanılarak Balık İşleme Atıklarından Balık Protein Hidrolizatu Üretimi** 502-513
- Production of Fish Protein Hydrolizate Using Enzymatic Hydrolysis from Fish Processing Wastes
Koray KORKMAZ, Bahar TOKUR, Yılmaz UÇAR